

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA - CIÊNCIA DO SOLO
TESE

O MOLIBDÊNIO NA NUTRIÇÃO NITROGENADA E NA CONTRIBUIÇÃO
DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO ASSOCIADA À CULTURA DA
CANA-DE-AÇÚCAR

JOSÉ CARLOS POLIDORO

SEROPÉDICA
NOVEMBRO DE 2001

122.02
P. 122.02
T

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA - CIÊNCIA DO SOLO

O MOLIBDÊNIO NA NUTRIÇÃO NITROGENADA E NA CONTRIBUIÇÃO DA
FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO ASSOCIADA À CULTURA DA
CANA-DE-AÇÚCAR

JOSÉ CARLOS POLIDORO, 1970 -

SOB A ORIENTAÇÃO DO
PROF. DOUTOR SEGUNDO URQUIAGA

*Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de Philosophiae
Doctor em Agronomia, Área de
Concentração em Ciência do Solo.*

SEROPÉDICA / RJ
Novembro de 2001

Título da Tese

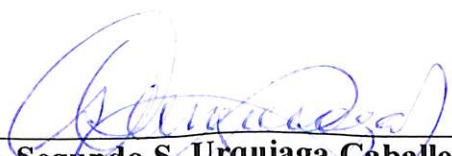
**O MOLIBDÊNIO NA NUTRIÇÃO NITROGENADA E NA
CONTRIBUIÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO
ASSOCIADA À CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR**

Autor:

JOSÉ CARLOS POLIDORO

Aprovada em 23 de novembro de 2001.

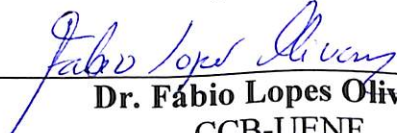
Banca Examinadora:



Dr. Segundo S. Urquiaga Caballero
Embrapa-Agrobiologia (Orientador)



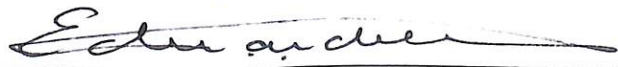
Dr. Robert M. Boddey
Embrapa-Agrobiologia



Dr. Fábio Lopes Olivares
CCB-UENF



Dr. Mauri Santos Manhães
UFRRJ – “Campus Leonel Miranda”



Dr. Eduardo Lima
UFRRJ-Depto de Solo/Instituto de Agronomia

DEDICATÓRIA

Dedico esta simples obra aos que sempre cultivaram dentro de mim o desejo incontrolável de sempre fazer melhor...

Pedro e Paulo, Aparecida e Ana Carolina,
Proteção e Paciência, Amparo e Amor.

Em todos os dias sinto a presença de vocês, muito obrigado por isso.

AGRADECIMENTOS

Ao Doutor Segundo Urquiaga, com o qual tanto aprendi, pela orientação, amizade e estímulo;

Aos professores e pesquisadores Dr(s). Mauri Manhães, Bruno Alves, Robert Boddey, Verônica Massena Reis, Fabio Lopes Olivares e Eduardo Lima, pela importante colaboração na elaboração deste trabalho;

Ao Dr. Delvo de Sousa UFRRJ – “Campus Leonel Miranda” que possibilitou o primeiro passo deste trabalho ao campo;

A Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, minha escola de vida;

A Embrapa-Agrobiologia pela abertura das portas da ciência;

Aos funcionários da Embrapa – Agrobiologia, os quais tenho muito respeito e gratidão eterna, sem distinção, e portanto, impróprio se torna citar os seus nomes...;

Ao amigo Geraldo Baêta, que sempre me deu o exemplo de que, quão maior será o problema, se se diminui o tamanho do sorriso, quando vê os amigos;

Ao meu grande e fiel amigo, Senhor Carmindo, técnico agrícola UFRRJ – “Campus Leonel Miranda”, ao qual devo todo o aprendizado nos trabalhos em campo e em lições de perseverança;

As usinas e destilarias, produtores rurais e técnicos que prestaram todo o apoio para a realização das diversas etapas deste trabalho

A Viviane Escaleira, Rojane Santos e Marcelo Saldanha Embrapa – CNPS, pela excelente convivência e dedicação no apoio nas análises químicas;

A Usina Santa Cruz S/A - Campos dos Goytacazes, em nome dos senhores Emanuel Duncan, Fernando Hugenin e Jorge Oliveira, pela importante parceria construída por este trabalho;

Aos inigualáveis grandes amigos que aqui fiz e que tanto contribuíram para a execução deste trabalho, os quais não direi o nome, por não ser necessário. Mas a turma do “Cafofo” ou “Senzala”, realmente é inigualável, um misto de competência com visão crítica, tolerância e, principalmente, uma vontade louca de viverem a vida intensamente.

A estes seres especiais que conseguem ver além do horizonte, e me mostraram que o caminho só existe quando nele se passa....

HOMENAGEM

Aos meus irmãos adquiridos Sílvio Nolasco de Oliveira Neto, Paulo Sérgio dos Santos Leles e Edvã Oliveira Brito, mineiros originais, amigos eternos...

DESAFIOS...

“O que as pessoas sentem quando estão diante de você?”

...

**E para quem interesse: “...Eu prefiro ser esta metamorfose ambulante, a ter aquela
velha opinião formada sobre tudo...”**

Raul Seixas e Paulo Coelho

“Tenham fé...

Busque seus ideais...

Olhe para trás,

As vezes para baixo,

De vez em quando para baixo,

Sempre para frente,

Para que nossos inimigos tenham pernas e não nos alcancem...”

Racionais

Enquanto muitos perguntam por quê?

Eu prefiro perguntar por que não?

...

BIOGRAFIA DO AUTOR

JOSÉ CARLOS POLIDORO, nasceu em Barbacena, Estado de Minas Gerais, em 25 de março de 1970.

Em 1988 concluiu o curso Científico no Colégio Universitário, Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Estado de Minas Gerais.

Em 1994, concluiu o Curso de Agronomia, na Universidade Federal de Viçosa.

Em 1997, concluiu o Curso de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola, ao nível de Mestrado, na Universidade Federal de Viçosa.

Em 1997 ingressou no Curso de Pós-graduação em Agronomia-Ciência do Solo, ao nível de doutorado, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

ÍNDICE

Dedicatória.....	iv
Agradecimentos	v
Homenagem	vii
Desafios... ..	viii
Biografia do autor.....	ix
Abstract.....	xxii
1 Introdução	1
2 Revisão de literatura	6
2.1 Nutrição nitrogenada e molíbdica na cultura da cana-de-açúcar.....	6
2.2 Quantificação da contribuição da fixação biológica de N ₂ pela técnica da abundância natural de ¹⁵ N em sistemas agrícolas (δ ¹⁵ N).....	8
2.2.1 Técnica da abundância natural de ¹⁵ N (δ ¹⁵ N)	10
2.2.2 Quantificação da contribuição da fixação biológica de N ₂ através da técnica da abundância natural de ¹⁵ N (δ ¹⁵ N)	12
2.2.3 Princípio prático da técnica da quantificação contribuição da FBN associada a plantas, através da técnica de δ ¹⁵ N.	13
2.2.4 Fatores que influenciam aplicação da técnica de δ ¹⁵ N para a quantificação da FBN em sistemas agrícolas	15
2.2.4.1 Estimativa do valor do δ ¹⁵ N da fração disponível do N no solo.....	15
2.2.4.2 Estratégias para a estimativa do δ ¹⁵ N disponível do solo.....	16
2.2.4.3 Comparação entre o δ ¹⁵ N das plantas testemunhas (disponível do solo) e nas plantas teste.....	17
2.2.4.4 Fracionamento isotópico do N na planta teste (Valor B).....	18
2.2.4.5 Formas de N disponível no solo em sistemas agrícolas.....	19

2.2.4.6 Adição de N-fertilizante.....	20
2.2.4.7 Associações micorrízicas.....	22
2.3 O Molibdênio	23
2.3.1 O Molibdênio nos Sistemas Biológicos	23
2.3.2 Técnicas de determinação de Mo em tecidos vegetais e em solos.....	29
2.3.3 O Molibdênio no solo	31
2.3.3.1 Ocorrência e distribuição do mo no material de origem dos solos.....	31
2.3.3.2 O Mo no processo de formação de solos.....	33
2.3.3.3 Influência das propriedades e características do solo na disponibilidade de Mo.....	37
2.3.3.3.1 Qualidade e quantidade de minerais da fração argila e reação do Solo.....	37
2.3.3.3.2 Interações do Mo com outros nutrientes minerais no solo e nas plantas.....	39
2.3.3.3.3 Influência da matéria orgânica do solo na disponibilidade de Mo no solo.....	39
2.3.4 Disponibilidade de Mo no solo para plantas e microrganismos	40
2.3.4.1 uso de extratores químicos para a determinação da disponibilidade de Mo no solo	41
2.3.4.2 Extratores biológicos.....	43
3 Capítulo 1 - Contribuição da fixação biológica de nitrogênio (FBN) para a nutrição nitrogenada das plantas na cultura da cana-de-açúcar, estimada pela técnica da abundância natural de ^{15}N	46
3.1 Introdução.....	47
3.2 Material e métodos.....	49
3.2.1 Aspectos gerais.....	49
3.2.2 Estimativa da Contribuição da Fixação Biológica de N_2 para a cana-de-açúcar	49
3.2.3 Avaliação de características físicas e químicas do solo nas lavouras em estudo.	52
3.3 Resultados e discussões.....	74

3.3.1	Estimativa da contribuição da FBN para as plantas na cultura da cana-de-açúcar.....	74
3.3.2	Influência das variedades e do manejo da nutrição mineral das lavouras na contribuição da FBN na cana-de-açúcar	85
3.3.3	Considerações finais.....	88
3.3.4	Conclusões.....	89
4	capítulo 2 - Avaliação da influência da nutrição molibídica na produtividade, nutrição nitrogenada e na contribuição da FBN associada à cultura da cana-de-açúcar.....	91
4.1	Introdução.....	92
4.2	Material e métodos.....	95
4.2.1	Determinação de Mo em extrato de tecido de folhas de cana-de-açúcar.	95
4.2.2	Determinação do Mo pelo método do iodeto de potássio	96
4.2.3	Determinação de Mo por Espectrometria em Sistema de Emissão Atômica de Plasma por Indução Acoplada (ICP-EAS).....	97
4.2.4	Determinação do Molibdênio por Espectrometria de Emissão Atômica Direta de Plasma (DCP-MEAS).....	97
4.2.5	Avaliação da exatidão e precisão das técnicas de detecção de Mo.....	98
4.2.6	Determinação da bio-disponibilidade de Mo em Solos.....	98
4.3	Resultados e discussão.....	101
4.3.1	Teores de Mo em folhas de cana-de-açúcar determinados por espectrometria de emissão de plasma (ICP-EAS e DCP-MEAS) e espectrofotometria de absorção molecular (KI-H ₂ O ₂).....	101
4.3.2	Nutrição molibídica, produtividade e fixação biológica de nitrogênio atmosférico associadas à cultura da cana-de-açúcar.....	107
4.3.3	Disponibilidade de Mo no solo	110
4.4	Conclusões.....	115
5	Capítulo 3- otimização da nutrição nitrogenada das plantas e da produtividade de lavouras de cana-de-açúcar, na região canavieira de campos dos goytacazes, através da adubação com molibdênio	116
5.1	Introdução.....	117
5.2	Material e métodos.....	120

5.2.1	Caracterização e histórico da área e das condições de estudo	120
5.2.1.1	Condições de instalação e condução do experimento.....	121
5.2.2	Características Avaliadas nas plantas de cana-de-açúcar	122
5.2.2.1	Determinação dos teores foliares de N e de Mo.....	122
5.2.2.2	Quantificação das populações de bactérias diazotróficas associadas à cana-de-açúcar	123
5.2.2.3	Produtividade da lavoura e biomassa acumulada na parte aérea.....	123
5.2.2.4	Eficiência de aproveitamento do N-fertilizante.....	124
5.2.2.5	Contribuição da fixação biológica do nitrogênio atmosférico na acumulação de N pelas plantas.....	124
5.2.3	Análises estatísticas	125
5.3	Resultados e discussões.....	126
5.3.1	Apectos agronômicos	126
5.4	Aspectos nutricionais.....	132
5.4.1	Efeito da aplicação de N e de Mo e níveis críticos de Mo e de N nas plantas de cana-de-açúcar	132
5.4.2	Aproveitamento do N-fertilizante, fixação biológica de N ₂ e dinâmica de populações de bactérias diazotróficas associadas à cana-de-açúcar	139
5.4.3	Acumulação de N e de Mo na parte aérea da cana-de-açúcar.	145
5.5	Conclusões.....	149
6	Capítulo 4 – Diagnose do estado nutricional da cana-de-açúcar através do uso do sistema integrado de diagnose e recomendação.....	150
6.1	Introdução.....	151
6.2	Material e métodos.....	153
6.3	Resultados e discussões.....	155
6.3.1	Diagnose do estado nutricional da cana-de-açúcar com uso de normas DRIS universais.....	155
6.3.2	Inclusão do Mo na diagnose nutricional da cana-de-açúcar	164
6.4	Considerações finais	167
7	Referências Bibliográficas	168

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 01: Algumas enzimas Mo-dependentes em diferentes grupos de organismos (Adaptado de Mendel, e Schwarz, 1999).....	28
Quadro 02 - Teores de Mo encontrados nas principais rochas (baseado em valores médios de encontrados em diferentes fontes bibliográficas) Adaptadas de Kabata-Pendias e Pendias (1984).....	33
Quadro 03: Teores de Molibdênio totais e disponíveis em classes de solos influenciados pelo material de origem.....	36
Tabela 01 – Descrição das características agronômicas das lavouras avaliadas nos Estados do Rio de Janeiro (10), Pernambuco (02), São Paulo (19) e Minas Gerais (17).....	53
Tabela 02 – Descrição das classes e do manejo da fertilidade dos solos nas lavouras avaliadas nos Estados do Rio de Janeiro (10), Pernambuco (02), São Paulo (19) e Minas Gerais (17)	58
Tabela 03 – Lista de espécies de plantas de ocorrência natural nas lavouras, utilizadas como testemunhas para a aplicação da técnica de $\delta^{15}\text{N}$. (Entre parênteses: nome popular das espécies em língua portuguesa).....	65
Tabela 04 – Características químicas das amostras de terra nas lavouras de cana-de-açúcar avaliadas (Embrapa, 1997).....	69
Tabela 05 – Teores de Areia Grossa, Areia fina, Silte e Argila (dag/kg) nas amostras de terras nas lavouras avaliadas. (Embrapa, 1997)	72
Tabela 06 – Estimativa da contribuição da FBN (%Ndfa) associada à cultura da cana-de-açúcar em diferentes regiões do Brasil pelo uso da técnica de abundância natural de ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$).....	75
Quadro 04 – Soluções e reagentes utilizados para a determinação de Mo em extrato vegetal ácido pelo método do iodeto de potássio (Yatzimirskii, 1964), com modificações.	96

Tabela 07. Calibração do cromatógrafo a gás, Perkim Elmmmer, integrador HP-Inject utilizados para medir a concentração de etileno e acetileno emitidos com a aplicação da técnica de Atividade de Redução de Acetileno (ARA).....	100
Tabela 08 – Teores de Mo nas folhas de cana de açúcar em lavouras comerciais no Brasil, determinados por espectrometria de indução direta e indução acoplada de plasma (DCP-MEAS e ICP-EAS) e por espectrofotometria (KI-H ₂ O ₂).....	103
Tabela 09 – Avaliação de exatidão das técnicas de determinação de Mo por espectrometria em plasma ICP-AES e espectrofotometria de absorção molecular KI-H ₂ O ₂ , pelo procedimento de “adição de padrão” em extratos minerais de amostras de folhas de cana-de-açúcar.....	104
Tabela 10 – Teores de Mo nas folhas de cana de açúcar, produtividade de colmos e contribuição média da fixação biológica do N ₂ (%Ndfa) em lavouras comerciais no Brasil.....	110
Tabela 11 – Disponibilidade de Mo no solo estimada pela atividade de redução de acetileno em <i>Azotobacter paspali</i> , em resposta á adição de Mo (nmol C ₂ H ₄ .h ⁻¹ .frasco ⁻¹)	113
Tabela 12 – Características químicas e físicas do solo em estudo (Embrapa, 1997).....	120
Tabela 13 – Produtividade da cana-de-açúcar, variedade RB 72 454 (rendimento de colmos) cultivada em diferentes níveis de aplicação de doses de Mo e de N.....	127
Tabela 14 – Modelos matemáticos aproximativos ajustados para estimativa de doses recomendáveis de N e de Mo para a maximização da produtividade econômica (MEE) da variedade RB 72454.....	129
Tabela 15 – Influência da aplicação de doses de N e de Mo no teor de N na folha +3 das plantas de cana-de-açúcar aos 90 dias de cultivo (30 dias após aplicação)	133
Tabela 16– Influência da aplicação de doses de N e de Mo no teor de N nas folhas +3 das plantas de cana-de-açúcar, aos 240 dias de cultivo	133
Tabela 17 – Teores de Molibdênio nas folhas da cana-de-açúcar, variedade RB 72 454 cultivada em diferentes níveis de aplicação de doses de Mo e de N	134
Tabela 18 – Eficiência de aproveitamento do N-fertilizante (Sulfato de amônio) na dose de 60,0 kg/ha, influenciada pela aplicação de doses de Mo.	140
Tabela 19 – N acumulado nos colmos da cana-de-açúcar, variedade RB 72 454 cultivada em diferentes níveis de aplicação de doses de Mo e de N	140

Tabela 20 – N total acumulado pela parte aérea (colmos+bandeiras+palhada) na cana-de-açúcar, variedade RB 72 454, cultivada em diferentes níveis de aplicação de doses de Mo e de N.....	141
Tabela 21– Contribuição da fixação biológica de nitrogênio (%Ndfa) estimada pela técnica de $\delta^{15}\text{N}$, nos tratamentos que receberam apenas a aplicação de Mo e o tratamento testemunha.....	142
Tabela 22 – Teores de Molibdênio na palhada da cana-de-açúcar, variedade RB 72 454, cultivada em diferentes níveis de aplicação de doses de Mo e de N, aos oito meses de cultivo.....	146
Tabela 23 – Conteúdo de Molibdênio acumulado na bandeira da cana-de-açúcar, variedade RB 72 454, cultivada em diferentes níveis de aplicação de doses de Mo e de N.....	146
Tabela 24 – Conteúdo de Mo acumulado pela palhada na cana-de-açúcar, variedade RB 72 454, cultivada em diferentes níveis de aplicação de doses de Mo e de N, aos dez meses de cultivo (cana-soca).	147
Tabela 25 – Conteúdo de Molibdênio acumulado pela parte aérea da cana-de-açúcar, variedade RB 72 454, cultivada em diferentes níveis de aplicação de doses de Mo e de N, aos dez meses de cultivo.....	147
Tabela 26 – Teores de macronutrientes e micronutrientes em folhas +3 de plantas de cana-de-açúcar cultivadas nas diferentes lavouras em estudo.....	160
Tabela 27 – Índices DRIS, produtividade de colmos e contribuição da FBN na cultura da cana-de-açúcar	162

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01 – Ilustração das variações da abundância natural de ^{15}N no sistema solo/atmosfera através da discriminação isotópica do ^{15}N ($\beta_{\text{obs.}}$), nas diferentes transformações bioquímicas e físico-químicas das formas de N presentes no solo.	11
Figura 02 – Ilustração da estimativa da contribuição da FBN associada a plantas baseada na aplicação teórica da fórmula sugerida por Shearer e Kohl (1986).	14
Figura 03 – Abundância natural de ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$) nas plantas testemunhas e na cana-de-açúcar em função do teor de matéria orgânica do solo, em todas as lavouras avaliadas neste estudo.	82
Figura 04– Correlação e regressão lineares entre os teores de Mo estimados pelas técnicas de ICP-EAS e KI- H_2O_2 nas amostras foliares de plantas de cana-de-açúcar.....	106
Figura 05 – Correlação e regressão lineares entre a disponibilidade de Mo no solo (ARA) e a contribuição da fixação biológica de nitrogênio (%Ndfa) em lavouras de cana-de-açúcar	114
Figura 06 – Precipitação pluviométrica, precipitação efetiva, e temperatura do ar do município de Campos dos Goytacazes (valores médios mensais do período de 1975 a 1999 e no ano de 1999), adaptado de Azevedo et al. (2000).	121
Figura 07 – Produtividade da cultura da cana-de-açúcar (Mg/ha), variedade RB 72454 em segundo ciclo cultural, influenciada pela aplicação de doses de N e de Mo estimada pela equação $\text{Rend} = 46,88 + 1,581^{**}\sqrt{\text{N}} + 1,219^{**}\sqrt{\text{Mo}} - 0,094^{\text{ns}}\text{N} - 0,031^{\text{o}}\text{Mo} \dots$	128
Figura 08 – Cortes ortogonais na superfície de resposta às doses de N e de Mo, considerando-se os efeitos do N dentro de cada nível de Mo	131
Figura 09 – Cortes ortogonais na superfície de resposta às doses de N e de Mo, considerando-se os efeitos Mo dentro de cada nível de N	132

Figura 10 – Teores de Mo observados nas folhas aos oito meses de cultivo da lavoura de cana-de-açúcar influenciados pelas doses de Mo e de N aplicadas.....	135
Figura 11 – Níveis críticos de Mo nas folhas de cana-de-açúcar para a produtividade de colmos, aos oito meses de cultivo da lavoura	136
Figura 12 – Concentrações de Mo nas folhas de cana-de-açúcar para a produtividade de colmos aos oito meses de cultivo da lavoura, em função do nível de N-fertilizante aplicado ao solo.	139
Figura 13 – Dinâmica de populações de bactérias diazotróficas (<i>Herbaspirillum</i> sp. <i>Azospirillum</i> spp.), associadas com as raízes das plantas de cana-de-açúcar aos oito meses de cultivo influenciadas, pela aplicação de doses de N e de Mo	144
Figura 14 – Dinâmica de populações de bactérias diazotróficas (<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>), associadas com as raízes das plantas de cana-de-açúcar aos oito meses de cultivo, influenciadas pela aplicação de doses de N e de Mo	144

RESUMO

O molibdênio é um micronutriente essencial para o metabolismo do nitrogênio em plantas que utilizam como fonte deste nutriente o nitrato do solo e/ou o nitrogênio atmosférico proveniente do processo de fixação biológica por bactérias diazotróficas associadas à planta. A cana-de-açúcar pode receber N proveniente destas duas fontes e, portanto, formula-se a hipótese de que o Mo é fator de produção desta cultura, pois o seu fornecimento adequado é necessário para que a elevada demanda de N pelas plantas seja atendida, principalmente pela otimização da contribuição da FBN na nutrição sua nitrogenada. Os objetivos deste trabalho foram: (a) quantificar a contribuição da FBN na cultura da cana-de-açúcar em lavouras comerciais nas principais regiões produtoras do Brasil. (b) avaliar e calibrar técnicas de determinação de Mo em tecido de plantas de cana-de-açúcar, e técnicas de detecção em solos cultivados com cana-de-açúcar com disponibilidade de Mo limitantes. (c) calibração de doses recomendáveis e níveis críticos de Mo na cultura da cana-de-açúcar na região de baixada em Campos dos Goytacazes/RJ. (d) avaliação do estado nutricional da cultura da cana-de-açúcar em lavouras comerciais, com ênfase em micronutrientes. Um diagnóstico da contribuição da FBN para a cultura da cana-de-açúcar, através da aplicação da técnica da abundância natural de ^{15}N foi realizado em lavouras comerciais localizadas em usinas, destilarias e em propriedades de produtores/fornecedores nos Estados da Federação Minas Gerais, Pernambuco, Rio de Janeiro e São Paulo, abrangendo culturas em primeiro ciclo (cana-planta) e a partir do segundo ciclo (socarias), cujas principais variedades cultivadas atualmente foram amostradas. A aplicação da técnica da abundância natural de ^{15}N para a cultura da cana-de-açúcar possibilitou a quantificação da contribuição da FBN para as plantas, a qual variou entre zero e 60%, com média de 32%. O ciclo cultural da lavoura não influenciou a magnitude da contribuição da FBN para as plantas, enquanto a fertilidade natural do solo e

nutrição mineral das plantas, principalmente micronutrientes, devem ser monitorados pois são essenciais para a otimização da contribuição deste processo para a nutrição nitrogenada das plantas na cultura da cana-de-açúcar. Os teores de Mo nas plantas de cana-de-açúcar amostradas nas lavouras em estudo foi determinado através do uso de técnicas de espectrometria, por emissão de plasma em ICP-AES e DCP-MAES, e de espectrofotometria de absorção molecular com iodeto de potássio e peróxido de hidrogênio ($KI-H_2O_2$). A técnica do DCP-MAES superestimou os teores de Mo nas plantas de cana-de-açúcar, principalmente nas amostras que apresentaram concentrações de Mo abaixo de um miligrama por quilograma. As técnicas do ICP-AES e $KI-H_2O_2$ apresentaram exatidão e precisão elevadas, sendo que a de $KI-H_2O_2$ apresentou maior sensibilidade com limite mínimo de detecção quatro vezes menor que a técnica de ICP-EAS, sendo mais adequada para a detecção de concentrações de Mo nas folhas de cana-de-açúcar abaixo de 0,50 mg/kg, neste estudo. Os teores de Mo observados nas folhas de cana-de-açúcar não se correlacionaram com a produção das lavouras e com a contribuição da FBN para as plantas, quando avaliado isoladamente. A disponibilidade de Mo nos solos das lavouras limitou a contribuição da FBN para as plantas e, possivelmente, a produção da cultura. A influência da aplicação de Mo na otimização da nutrição nitrogenada foi avaliada em experimento fatorial com níveis de Mo e de N aplicados às plantas de canas-de-açúcar cultivadas em lavoura localizadas em solo de baixa fertilidade naturais, na região de Campos dos Goytacazes/RJ. A aplicação de Mo isoladamente aumentou a produção da cultura em 25%. A aplicação de Mo juntamente com o N-fertilizante possibilitou a diminuição em 50% da necessidade de aplicação deste último. A produção da cultura nos tratamentos que receberam apenas aplicação de N-fertilizante foi significativamente menor que a observada pela aplicação da maior dose de Mo (400 g/ha), isoladamente. O nível crítico de Mo nas folhas das plantas para a máxima eficiência física (MEF) da produção de colmos pela cultura foi de 0,32 mg/kg, e para a produção equivalente à máxima eficiência econômica (MEE= 95% da MEE) apresentou-se na faixa entre 0,25 a 0,41 mg/kg de Mo, independente do nível de aplicação de N-fertilizante. No entanto, neste estudo observou-se tendência de o nível crítico de Mo ter sido influenciado pelo nível de N-fertilizante aplicado na lavoura. A contribuição da FBN para as plantas foi de 50% em média nos tratamentos que receberam apenas aplicação de Mo. A aplicação de Mo isoladamente estimulou a população de bactérias diazotróficas associadas às plantas de cana-de-açúcar, *Herbaspirillum* sp. e

Azospirillum spp. e *Gluconacetobacter diazotrophicus* presentes nas raízes das plantas. A aplicação de N-fertilizante apresentou efeito negativo nas populações destas bactérias, principalmente na dose equivalente a 120 kg/ha de N. A eficiência de recuperação do N-fertilizante pelas plantas de cana-de-açúcar foi de 50%, nos tratamentos que receberam a dose equivalente e 60 kg/ha, e não foi significativamente afetada pela aplicação de Mo. A avaliação do estado nutricional global das plantas de cana-de-açúcar foi feita pelo uso do sistema integrado de diagnose e recomendação (DRIS) proposto para os nutrientes N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, Zn, Cu, B e Mo. Avaliou-se a inclusão do Mo no sistema DRIS, e, de uma maneira geral, em lavouras que apresentaram limitação deste micronutriente a contribuição da FBN para as plantas de cana-de-açúcar não foi significativa.

ABSTRACT

Molybdenum (Mo) is a micro-nutrient essential for nitrogen metabolism in plants which derive their N from nitrate in the soil and/or atmospheric N₂ via the process of biological nitrogen fixation (BNF) carried out by plant-associated diazotrophic bacteria. Sugar cane is able to acquire N from these two sources, and thus it was hypothesised that Mo might be a limiting factor for the productivity of this crop, as an adequate Mo supply is necessary if the high demand for N of the crop is to be satisfied, especially in order to optimise the contribution of BNF. The objectives of this study were to: (a) quantify the contribution of BNF to sugar cane in commercial plantations in the principal cane producing areas of Brazil, (b) evaluate and calibrate techniques for the determination of Mo in plant tissues of sugar cane, and for the detection of soils under sugar cane where this element is limiting to crop growth, (c) calibrate the recommended doses and critical levels of Mo in the sugar cane crop in the flood plain area of Campos dos Goytacazes (Rio de Janeiro State), (d) evaluate the overall nutritional state of sugar cane in commercial plantations, with the emphasis on micro-nutrients. A survey of the contribution of BNF to the sugar cane crop using the ¹⁵N natural abundance technique was conducted on commercial plantations belonging to sugar mills and distilleries and to cane suppliers in the States of Minas Gerais, Pernambuco, Rio de Janeiro and São Paulo, examining both plant cane and ratoon crops of the principal planted varieties. The results using this ¹⁵N technique indicated that BNF contributions ranged from 0 to 60 % of plant N, with a mean of 32 %. The age of the plantation (plant crop or successive ratoons) did not influence the magnitude of the BNF contribution to the plants, although the fertility of the soil and mineral nutrition of the plants, principally micro-nutrients should be monitored for the optimisation of the contribution of this process to the N nutrition of the cane plants. The concentration of Mo in the plants sampled was determined using the following techniques: spectrometry, plasma

emission (ICP-AES and DCP-MAES) and molecular absorption spectrophotometry with potassium iodide and hydrogen peroxide (KI-H₂O₂). The DCP-MAES technique overestimated the concentration of Mo in cane plants, principally in samples with levels of Mo lower than 1 mg kg⁻¹. The ICP-AES and KI-H₂O₂ techniques were shown to be of high accuracy and precision and the KI-H₂O₂ technique showed the greatest sensitivity with as minimum limit four times lower than the ICP-AES technique, being able to detect Mo concentrations in leaf samples below 0.50 mg kg⁻¹. The levels of Mo observed in sugar cane leaf samples were not correlated with the yield of the crops or with the proportional contribution of BNF when evaluated individually. The availability of Mo in soils was limiting to the BNF contribution to the cane plants and, possibly, the yield of the crops. The influence of the application of Mo to optimise N nutrition of sugar cane was evaluated in a factorial experiment with increasing levels of N and Mo applied to cane plants in an area of soil of low natural fertility in the region of Campos dos Goytacazes (RJ). The application of Mo alone increased production by 25 %. The application of Mo together with N showed that it was possible to reduce N fertiliser application by 50 % while still maintaining the same yield. The yield of cane in the treatments which received only N fertiliser [60 or 120 kg N ha⁻¹] was significantly lower than that observed when Mo (400 g Mo ha⁻¹) was applied alone. The critical level of Mo in the plants for the maximum physical efficiency (MPE) for cane stem yield was 0.32 mg kg⁻¹, and for the maximum economic efficiency (MEE= 95 % of MEF) was between 0.25 and 0.41 mg Mo kg⁻¹ independent of the level of N fertiliser addition. However, in this study there was a tendency for the critical level of Mo to be influenced by the amount of fertiliser N applied. The proportional BNF contribution to the cane plants was on average 50 % in the treatments which received only Mo. The application of Mo alone stimulated the populations of diazotrophic bacteria (*Herbaspirillum* spp., *Azospirillum* spp. and *Gluconacetobacter diazotrophicus*) present in the roots of the sugar cane plants. The application of N fertiliser depressed the populations of these N₂-fixing bacteria principally at the highest level of N fertiliser (120 kg N ha⁻¹). The efficiency of the recovery of N fertiliser by the plants was 50 % in the treatments which received an application of 60 kg N ha⁻¹ and was not significantly affected by the application of Mo. The evaluation of the nutritional status of the sugar cane plants was determined using the integrated system for diagnosis and recommendation (DRIS) for the elements N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, Zn, Cu, B and Mo. The inclusion of the element Mo

in the DRIS system was evaluated and, in general, in crops where this micro-nutrient was found to be limiting the contribution of BNF to the cane plants was not significant.

1 INTRODUÇÃO

A cultura da cana-de-açúcar é uma das mais importantes para o setor agropecuário do Brasil, pois com a produção anual de 300 milhões de toneladas de colmos, o País detém a posição de maior produtor mundial de açúcar, além de um dos principais programas de produção de combustíveis alternativos ao petróleo - o Pró-Álcool. Este programa garantiu ao País, nas décadas de setenta e oitenta, uma alternativa viável e importante dentro de crises de energia combustível para automóveis, como a ocorrida com o petróleo nesta época, tendo que ser considerado, no mínimo, estratégico para o setor de energia do País.

Entretanto, apesar desta posição de destaque do País no cenário do agronegócio mundial, a produtividade nacional da cultura da cana-de-açúcar é uma das mais baixas do mundo, cerca de 60,0 Mg/ha (IBGE, 2001; Jornalcana, 2001), cerca da metade de Países como Peru, 115,0 Mg/ha e Ilhas Maurício, 92,0 Mg/ha. Este fato também se configura no contexto interno do Brasil, onde a discrepância entre o nível de produtividade entre as principais unidades da Federação, por exemplo, Rio de Janeiro (42,0 Mg/ha) e São Paulo (80,0 Mg/ha) (Sidra-IBGE, 2001), significam que o manejo desta cultura no Brasil necessita de maiores intervenções técnicas, para que se eleve a produtividade com diminuição dos custos de produção da lavoura. Este fator é primordial para a consolidação da saída da atual crise em que o setor se encontra, pois dentre os custos de produção sucroalcooleira, os gastos com o manejo agrônômico da lavoura, principalmente pelo uso de corretivos e fertilizantes industrializados, são bastante significativos.

Diversas estratégias podem ser adotadas nos diferentes setores da agroindústria sucroalcooleira visando otimização dos processos que impetram maiores custos de

produção. Dentre elas, considera-se que qualquer prática de manejo que diminua o elevado custo de produção agrícola desta cultura, o qual é, atualmente, em média, R\$ 1.000,0/ha (Jornalcana, 2001), seja estratégico para o setor. Os gastos com fertilizantes são bastante influentes nestes custos, podendo, em áreas cultivadas que apresentam classes de solos de baixa fertilidade natural, tornar a produção inviável economicamente, caso seja seguida a recomendação técnica convencional.

No manejo da fertilidade do solo, a adubação nitrogenada é a que mais contribui para o elevado custo desta prática, principalmente pelo alto e variável custo do N-fertilizante e pela baixa eficiência no aproveitamento do fertilizante no solo pela cultura, o que comumente não ultrapassa a 40% do total do fertilizante aplicado ao solo, na mesma safra (Urquiaga e Zapata, 2000). Portanto, práticas alternativas de manejo que aumentem a eficiência do uso de N-fertilizante e, principalmente, otimizem os processos biológicos envolvidos no fornecimento deste nutriente para as plantas de cana-de-açúcar, são de grande importância para a diminuição dos custos de produção esta cultura.

A cana-de-açúcar cultivada no Brasil apresenta um modelo de nutrição nitrogenada em que o total de N acumulado pelas plantas pode ser proveniente de duas fontes distintas, resultante da absorção de N-disponível do solo, efetivamente na forma de nitrato (NO_3^-) (Orlando Filho, 1983), e/ou da contribuição do processo de fixação biológica de N_2 atmosférico (FBN), por bactérias diazotróficas associadas às plantas. Esta última fonte tem sido atualmente aceita, no mínimo, como potencial para algumas variedades comerciais cultivadas no País, como evidenciada pela não resposta da lavoura em primeiro ciclo (cana-planta) observado em 78% dos ensaios avaliados a campo por Azeredo et al. (1986). Ruschell et al. (1975), Lima et al. (1987) e Urquiaga et al. (1992), através de técnicas isotópicas demonstraram este potencial de FBN em algumas variedades comerciais brasileiras, sendo que nestes dois últimos, variedades comerciais brasileiras, em condições controladas, apresentaram elevada produtividade e receberam até 60% do total de N acumulado pelas plantas do processo de FBN, indicando que cerca de 50 -100 kg/ha/ano de N, potencialmente, podem ser incorporados na planta de cana-de-açúcar através do processo de FBN. Estes autores enfatizaram que, para que a contribuição da FBN seja otimizada nesta cultura, o fornecimento dos outros nutrientes de forma adequada e equilibrada é essencial,

principalmente aquele envolvido diretamente neste processo. Neste sentido faz-se necessário a avaliação da contribuição da FBN em lavouras comerciais desta cultura, conjuntamente com monitoramento do estado nutricional das plantas, para a elaboração de práticas de manejo que otimizem a contribuição deste processo para a nutrição nitrogenada das plantas de cana-de-açúcar.

Admitindo-se um modelo de nutrição nitrogenada da cultura da cana-de-açúcar no Brasil, no qual potencialmente metade do N acumulado pela planta é proveniente do solo, principalmente NO_3^- , e a outra do processo de FBN, formula-se a hipótese de que o molibdênio (Mo) é um nutriente de elevada importância para esta cultura, podendo ser considerado como fator de produtividade, pois é essencial na atividade das enzimas redutase do nitrato (RN) nas plantas, e nitrogenase (NA) nas bactérias diazotróficas, para a otimização da nutrição nitrogenada das plantas.

Esta hipótese de que a disponibilidade de Mo pode estar limitando a produtividade da cultura da cana-de-açúcar é reforçada pela diagnose de deficiências em micronutrientes nesta cultura em áreas de expansão agrícola com novas lavouras, cujos solos são ácidos e de baixa fertilidade natural, como no cerrado brasileiro. Neste caso, a prática da aplicação de micronutrientes nesta cultura, a qual é limitada apenas à adição resíduos orgânicos industriais (torta de filtro, etc.), no plantio somente, possivelmente, não oferecem quantidades adequadas de micronutrientes para as plantas durante as safras posteriores ao primeiro ciclo da lavoura (socarias) (Tokeshi, 1991). Para o Mo, esta situação pode ainda ser mais severa, uma vez que este micronutriente ocorre, diferentemente dos outros, na forma aniônica (MoO_4^-), sofrendo interações (adsorção) com a superfície de troca da fração coloidal do solo, a qual predominantemente, é carregada positivamente na maioria dos solos brasileiros (solos ácidos), causando limitações na disponibilidade deste micronutriente para as plantas nos mesmos (Bataglia et al, 1971; Parchira et al., 1997).

Atualmente, os trabalhos de pesquisa sobre a nutrição molíbdica na cultura da cana-de-açúcar ainda são escassos. Estima-se que o nível crítico de Mo nas plantas de cana-de-açúcar pode estar entre 0,15 e 0,3 mg/kg de Mo (Malavolta et al., 1997), no entanto, as hipóteses da pesquisa consideram que a exigência de Mo pela planta é principalmente para suprir a atividade da redução do NO_3^- absorvido do solo. A concentração de Mo nas enzimas redutase do nitrato (0,04 a 0,06%) e nitrogenase (0,07

a 0,08%) (Shah, 1981) são bastante distintas levando à hipótese de que o nível crítico de Mo na cana-de-açúcar depende, neste contexto, da proporção entre as duas fontes de N na acumulação deste nutriente pelas plantas, como observado em espécies cultivadas de plantas leguminosas.

O estabelecimento do nível crítico de Mo nas plantas de cana-de-açúcar apresenta limitações na inexistência de metodologias com procedimento simplificado e com reprodutibilidade, precisão e exatidão aceitáveis. Atribui-se esta limitação à complexidade dos métodos consideráveis adequados e a baixa concentração deste elemento nas plantas, principalmente em condições em que a planta apresenta-se deficiente neste elemento (Eivazi e Sims, 1997). Este fator agrava-se para o estabelecimento do nível crítico de Mo no solo, uma vez que, de uma maneira geral, a concentração disponível no solo é até dez vezes menor que na planta. Neste contexto, no Brasil, ainda não há conhecimento suficiente para que se discuta a recomendação da inserção da aplicação de Mo na cultura da cana-de-açúcar.

Entretanto, há o desenvolvimento de instrumentos modernos capazes de detectar concentrações cada vez mais baixas de elementos químicos como o Mo em soluções, os quais estão disponíveis para a pesquisa e a extensão agronômica, como a espectrometria por emissão de plasma (ICP-EAS, DCP-MEAS), a espectrometria de absorção atômica com acoplamento do forno de grafite, e a automação de métodos colorimétricos em sistemas de injeção em fluxo (FIA) ou auto analisadores (AAS), além do uso de indicadores biológicos da disponibilidade de Mo nos solos. Este contexto, abre novas perspectivas, e tornam clara a necessidade de desenvolvimento de trabalhos de pesquisa científica nesta área no Brasil.

Este trabalho tem como hipótese científica central que a otimização da nutrição nitrogenada da cana-de-açúcar com efetiva contribuição da FBN é controlada pelo adequado fornecimento de Mo para as plantas, nesta cultura.

Objetivos:

- 1 - Quantificar a contribuição da FBN na cultura da cana-de-açúcar em lavouras comerciais nas principais regiões produtoras do Brasil.
- 2 – Avaliar e calibrar técnicas de determinação de Mo em tecido de plantas de cana-de-açúcar, e técnicas de detecção de solos cultivados com cana-de-açúcar com disponibilidade de Mo limitantes.

- 3- Calibração de doses recomendáveis e estabelecimento de níveis críticos de Mo pás plantas de cana-de-açúcar em lavouras localizadas na região de baixada em Campos dos Goytacazes/RJ.
- 4- Avaliação do estado nutricional da cultura da cana-de-açúcar em lavouras comerciais, com ênfase em micronutrientes.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 NUTRIÇÃO NITROGENADA E MOLÍBDICA NA CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR

Os estudos iniciais com a nutrição e o metabolismo do N na cultura da cana-de-açúcar concentraram seus objetivos na avaliação de práticas de manejo e os aspectos fisiológicos das plantas que permitiriam maior eficiência no uso do N-mineral do solo, bem como do N-fertilizante aplicados à cultura. A forma de N-mineral preferencialmente absorvida pelas plantas de cana-de-açúcar, e disponível na maioria dos solos cultivados com esta cultura, é o NO_3^- , (Malavolta et al., 1997). No entanto, a assimilação deste nutriente pela planta é condicionada à sua redução à amônia, a qual é, inicialmente, realizada pela catálise da enzima redutase do nitrato (Marshner, 1996).

Por outro lado, a investigação da presença de bactérias diazotróficas, capazes de fixarem o N_2 à NH_3 , pela atividade da enzima nitrogenase, associadas às plantas de cana-de-açúcar, iniciada na década de 1950 pela Dra. Johanna Döbereiner, sustentam, atualmente, as evidências de que vários gêneros destas bactérias encontradas na região da rizosfera – associativas e de vida livre - colonizando endofiticamente tecidos da raiz, caule e folhas da planta de cana-de-açúcar - endofíticas - são responsáveis pela significativa contribuição de N na nutrição nitrogenada via FBN nesta cultura (Döbereiner e Ruschel, 1958; Döbereiner 1959, 1961; Ruschel et al., 1975; 1978; Purchase, 1980; Graciolli et al., 1983; Baldani et al., 1986; Cavalcante e Döbereiner, 1988; Gillis et al., 1989; Döbereiner, 1992; Baldani et al., 1996; Baldani et al., 1997; Olivares, 1997). Recentes trabalhos realizados pela Embrapa-Agrobiologia evidenciaram que algumas variedades de cana-de-açúcar apresentam o potencial de obterem, em condições ideais, até 60% do N-acumulado na matéria seca do processo de

fixação biológicas do nitrogênio (FBN) associado à cultura (Lima et al., 1987; Urquiaga et al., 1992; Polidoro et al., 2000), indicando que cerca de 50 -100 kg/ha/ano de N sejam incorporadas na planta de cana-de-açúcar através da FBN. Esta alternativa de fornecimento de N para a cultura da cana-de-açúcar de fonte biológica tem, além do aspecto econômico, o qual potencializa a total eliminação do uso de N-fertilizante nesta cultura, implicações ecológicas e ambientais mais relevantes, o que justifica a necessidade de exploração deste processo, enfatizando os estudos dos fatores que atuam na FBN.

Estes dois processos de transformação de N associados às plantas de cana-de-açúcar, os quais são condicionados pela atividade das enzimas redutase do nitrato e nitrogenase (Srivastava, 1997), necessitam serem otimizados para que este nutriente não limite a produtividade desta cultura, e que as perdas de N-mineral do solo, num processo de degradação, ambiental sejam minimizadas. A atividade de ambas as enzimas apresentam extrema dependência do fornecimento adequado de Mo, uma vez que esse micronutriente participa do co-fator essencial para a redução do N_2 e, inicialmente do NO_3^- , a NH_3 (Shah et al., 1984, Gupta e Lipsett, 1981; Romheld & Marschner, 1991). Estudos realizados avaliando a importância do Mo no metabolismo do N e no crescimento da cana-de-açúcar demonstraram que a assimilação do N proveniente do NO_3^- pelas plantas foi significativamente aumentado pela aplicação deste micronutriente (Agarwalla et al., 1986) e que, em solos de baixa fertilidade natural, o uso desta forma de N-mineral pela planta foi condicionado pela aplicação do Mo às plantas (Fernandes e Almeida, 1982). Recentes estudos evidenciaram o papel do Mo na FBN associada à cana-de-açúcar demonstrando que a produtividade da cultura em lavouras onde não se aplicou N-fertilizante em solos de baixa disponibilidade deste nutriente aumentou em aproximadamente 25%, apenas com a aplicação de Mo (Urquiaga et al., 1996). Estes autores atribuíram este acréscimo na produtividade ao aumento da contribuição da FBN para a nutrição nitrogenada das plantas pela aplicação do Mo. Estes resultados indicam que, em lavouras de cana-de-açúcar, principalmente em áreas com classes de solos de baixa fertilidade natural, o Mo pode estar limitando o fornecimento e utilização adequados do N e, conseqüentemente, a produtividade desta cultura.

2.2 QUANTIFICAÇÃO DA CONTRIBUIÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE N₂ PELA TÉCNICA DA ABUNDÂNCIA NATURAL DE ¹⁵N EM SISTEMAS AGRÍCOLAS ($\delta^{15}\text{N}$)

O processo de fixação biológica de nitrogênio atmosférico (FBN) representa uma importante fonte deste macronutriente para a nutrição mineral de diversas culturas agrícolas, nas quais é conhecida a associação entre bactérias diazotróficas e as plantas cultivadas. Este processo, potencialmente pode suprir parte da demanda de N das plantas, minimizando e/ou eliminando a necessidade aplicação de fertilizantes nitrogenados industrializados, caso os fatores que o influenciam sejam otimizados (planta, microrganismos, condições edafoclimáticas). O uso de fertilizantes nitrogenados é bastante influente nos custos de produção das culturas agrícolas, principalmente em países como o Brasil, onde o preço de cada quilograma de N na forma de fertilizante nitrogenado equivale a US\$ 0,70 (SIDRA-IBGE, 2002). Neste cenário, o desenvolvimento de conhecimentos, através pesquisa científica, que proporcionem a otimização da contribuição da FBN, ao nível do campo, para a agricultura brasileira é essencial, pois poderá acarretar expressiva diminuição dos custos de produção das lavouras, uma vez que são utilizados no País, atualmente, cerca de 1.500.000 Mg/ha/ano de fertilizantes nitrogenados industrializados (SIDRA-IBGE, 2001).

A pesquisa científica no Brasil que tem como um dos principais objetivos aumentar a contribuição da FBN na nutrição nitrogenada das plantas cultivadas, tem obtido avanços importantes nas últimas duas décadas. Exemplos destes avanços podem ser observados nas culturas da soja e da cana-de-açúcar, nas quais o conteúdo de N acumulado pelas plantas proveniente da FBN pode permitir que se cultive ambas as culturas sem a aplicação de N-fertilizante, ou, quando necessário, aplicando-se quantidades bem menores que a extraída pela cultura, sem empobrecimento do solo deste nutriente (Urquiaga et al., 1992; Hungria et al, 2001). Entretanto, apesar de que em outras importantes culturas agrícolas, tais como feijão e arroz, a FBN potencialmente pode suprir em até 60% (Boddey, et al., 1996) e 30% (Oliveira, 1994) da sua demanda de N, em condições experimentais, respectivamente, nas lavouras comerciais destas culturas no Brasil, considera-se que a contribuição deste processo para a nutrição nitrogenada das plantas ainda é insignificante.

Além disso, a agricultura brasileira tem elevado anualmente a produtividade das lavouras das principais plantas cultivadas (Sidra-IBGE, 2002), o que pode resultar em aumento da demanda de nutrientes pelas plantas e, conseqüentemente, da exportação dos mesmos do sistema através da retirada da produção. Nesta justificativa, alguns técnicos e pesquisadores levantam hipóteses de que o processo de FBN não sustentaria a demanda de N das plantas, inclusive nas culturas da cana-de-açúcar e da soja, sendo necessário aumento e/ou implementação das doses aplicadas de fertilizantes nitrogenados nas mesmas (POTAFOS, 1998). No entanto, ainda não existem trabalhos científicos que testaram estas hipóteses, e por isso, a estimativa da contribuição da FBN associada a diferentes culturas agrícolas no Brasil, ao nível do campo, com exatidão, é essencial. A consistência desta estimativa é importante também para a avaliação juntamente com os fatores do manejo das lavouras que influenciam este processo, agrupando informações para a elaboração de estratégias que otimizem a contribuição da FBN para estas culturas, evitando a adoção de práticas de manejo da lavoura que implique em elevação da aplicação de fertilizantes, sem comprovação científica.

No Brasil, atualmente não há estimativas da total contribuição da FBN para a nutrição nitrogenada das plantas em sistemas agrícolas, o que é causado, em parte, pela carência de uma técnica adequadamente calibrada que estime de forma quantitativa o conteúdo de N acumulado pelas plantas que é proveniente deste processo. Diversas técnicas são utilizadas para a estimativa da FBN associada a plantas, tais como a da atividade de redução de acetileno (ARA) (Hardy et al. 1968), diferença no N-acumulado (N-diferença) e balanço de N (Boddey et al., 1995), relação ureídos/nitrato (Herridge 1982; Peoples et al., 1989; Herridge e Peoples, 1990; Peoples et al. 1991; Peoples et al. 1997, Carranca, et al. 1999), diluição isotópica de ^{15}N (Boddey et al., 1995), e abundância natural de ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$) (Shearer e Kohl, 1986). Estas técnicas apresentam vantagens e desvantagens inerentes aos procedimentos de amostragem e analíticos das mesmas (ver Boddey et al., 1995; Uncovich e Pate, 2000; Boddey et al., 2001). Dentre estas, as técnicas isotópicas apresentam a importante vantagem de permitir a discriminação e quantificação das fontes de N que contribuem para a nutrição nitrogenada das planta de forma direta, ou seja, através da aplicação destas técnicas pode-se saber qual a fração do N acumulado pela planta é proveniente do solo (N-nativo), do fertilizante nitrogenado quando aplicado e/ou do processo de FBN quando

associado às plantas. Além disso, as técnicas isotópicas são as únicas que se aplicam para a estimativa com elevada precisão da contribuição deste processo para a nutrição das plantas ao nível do campo em culturas de plantas não leguminosas (Boddey et al., 2001).

Dentre as técnicas isotópicas, a da abundância natural de ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$) apresenta maior potencial de estimar a contribuição da FBN associada a plantas com adequadas exatidão e precisão (Shearer e Kohl, 1986; Boddey et al., 2001). Estes autores enfatizaram que a principal característica que atribui esta vantagem a esta técnica sobre outras, é a possibilidade da estimativa da contribuição da FBN *in situ*, sem perturbação do sistema solo/planta, com os resultados expressando o acúmulo de N no tempo, e podendo ser utilizado para detectar a FBN em qualquer sistema biológico, sendo, no mínimo, semi-quantitativa (Shearer et al., 1978).

2.2.1 TÉCNICA DA ABUNDÂNCIA NATURAL DE ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$)

Na natureza existem dois isótopos estáveis do N, ^{14}N e ^{15}N , que teoricamente apresentam a abundância relativa de 99,637% para o ^{14}N e 0,3663% para o ^{15}N (Junk e Svec, 1952). No entanto, esta relação isotópica só é invariável no reservatório de N_2 do ar atmosférico (Mariotti, 1983), pois a mesma pode variar em outros reservatórios através dos processos de transformação do N onde ocorre a discriminação isotópica do ^{15}N na natureza. Este fenômeno é a base para o desenvolvimento das técnicas que utilizam estas variações na abundância natural de ^{15}N , pois a detecção destas variações possibilitam estudos da dinâmica do N em diferentes reservatórios na natureza (Shearer, et al. 1974). Dentre estes estudos foram desenvolvidas técnicas para a detecção e quantificação de fontes de contaminação de mananciais de água com nitratos (Shrestha, e Ladha, 1998); em estudos da dieta alimentar de animais e humanos (Schoening e DeNiro, 1984) e da contribuição da FBN na nutrição nitrogenada de plantas em sistemas naturais e agrícolas (Shearer e Kohl, 1986).

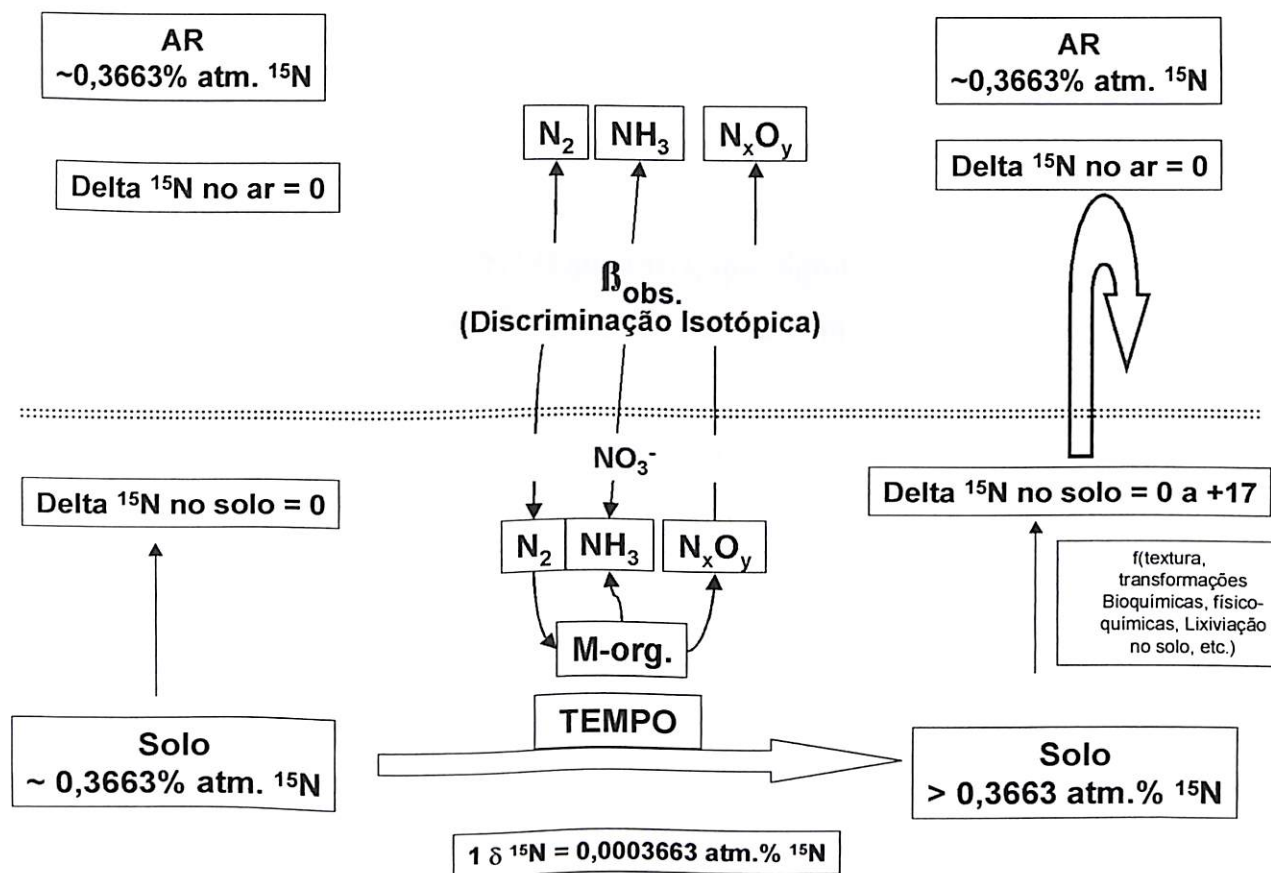


Figura 01 – Ilustração das variações da abundância natural de ^{15}N no sistema solo/atmosfera através da discriminação isotópica do ^{15}N ($\beta_{\text{obs.}}$), nas diferentes transformações bioquímicas e físico-químicas das formas de N presentes no solo.

No sistema solo/planta as variações da abundância natural do ^{15}N são causadas por processos bioquímicos microbianos, tais como amonificação, nitrificação e desnitrificação (Fotch, 1973); químicos como a volatilização de NH_3 (Chien et al., 1977); e fisiológicos como a absorção e translocação do N em plantas (Shearer et al., 1974). Estes processos, de uma maneira geral, causam pequena diferenciação da abundância de ^{15}N entre o solo e o ar atmosférico através do fenômeno de fracionamento isotópico do ^{15}N , sendo que cada um desses processos apresenta um coeficiente de discriminação isotópica, denominado β_{obs} (N_2) (Shearer e Kohl, 1986) (Figura 01). Assim, considerando-se os compostos envolvidos nas transformações do N como substrato e produto, se o valor de β_{obs} for menor ou maior que 1,0 (um) haverá enriquecimento em ^{15}N do substrato ou do produto, respectivamente. Estas variações podem ser detectadas com uso de modernos espectrômetros de massas com elevada

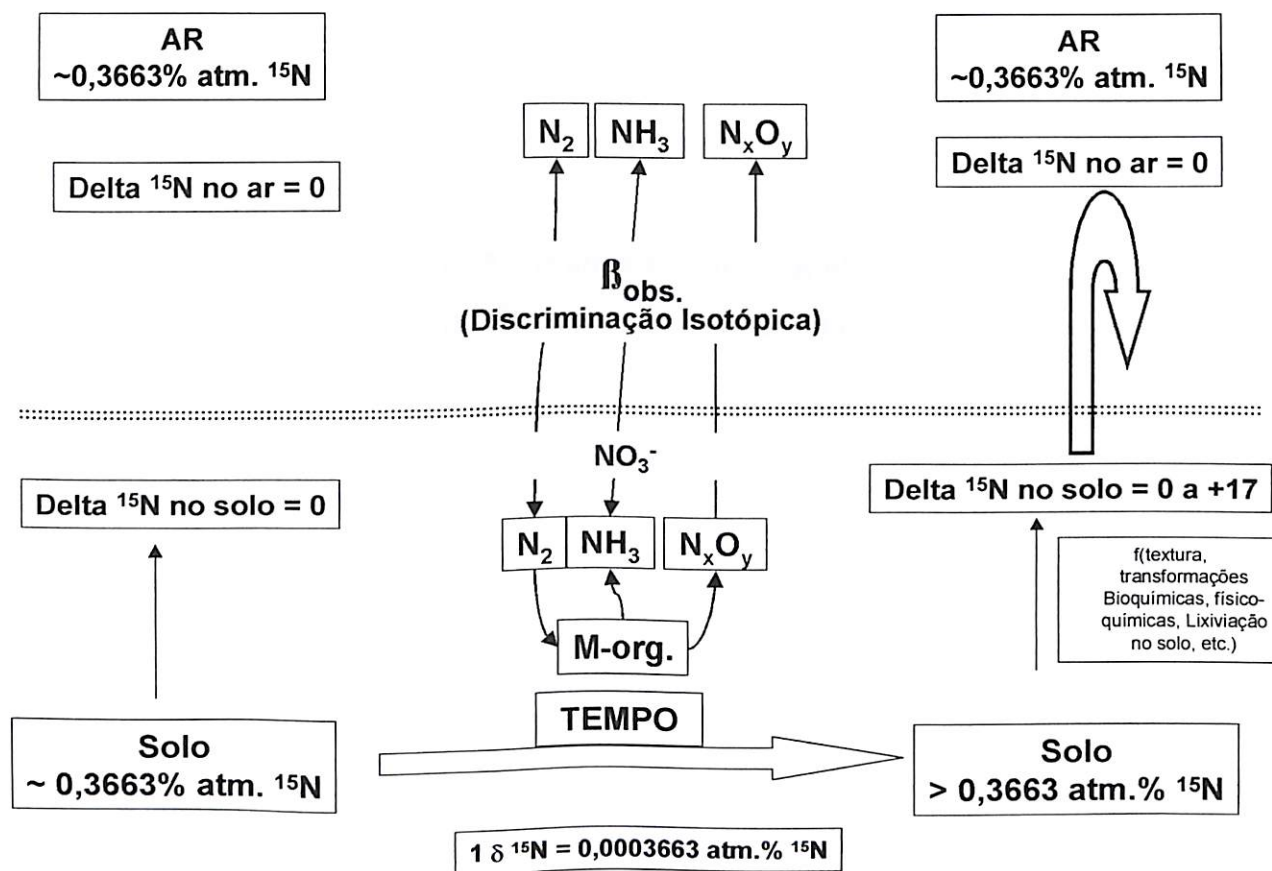


Figura 01 – Ilustração das variações da abundância natural de ^{15}N no sistema solo/atmosfera através da discriminação isotópica do ^{15}N ($\beta_{\text{obs.}}$), nas diferentes transformações bioquímicas e físico-químicas das formas de N presentes no solo.

No sistema solo/planta as variações da abundância natural do ^{15}N são causadas por processos bioquímicos microbianos, tais como amonificação, nitrificação e desnitrificação (Fotch, 1973); químicos como a volatilização de NH_3 (Chien et al., 1977); e fisiológicos como a absorção e translocação do N em plantas (Shearer et al., 1974). Estes processos, de uma maneira geral, causam pequena diferenciação da abundância de ^{15}N entre o solo e o ar atmosférico através do fenômeno de fracionamento isotópico do ^{15}N , sendo que cada um desses processos apresenta um coeficiente de discriminação isotópica, denominado β_{obs} (N_2) (Shearer e Kohl, 1986) (Figura 01). Assim, considerando-se os compostos envolvidos nas transformações do N como substrato e produto, se o valor de β_{obs} for menor ou maior que 1,0 (um) haverá enriquecimento em ^{15}N do substrato ou do produto, respectivamente. Estas variações podem ser detectadas com uso de modernos espectrômetros de massas com elevada

sensibilidade para a detecção da relação $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ nos reservatórios deste elemento (Boddey et al., 2001).

A diferença entre a abundância natural de ^{15}N os diferentes reservatórios deste elemento na natureza e o ar atmosférico foram convencionalmente estimadas pelo uso da unidade de “delta ^{15}N ” ou “ $\delta^{15}\text{N}$ ” (Figura 01), que significa a variação milesimal na abundância relativa de átomos de ^{15}N em uma amostra comparada à abundância natural do ^{15}N do N_2 atmosférico ($0,3663\% \text{ } ^{15}\text{N} = 0 \delta^{15}\text{N}$), como se segue: (1)

$$\delta^{15}\text{N} = ((R \text{ amostra} - R \text{ padrão})/R \text{ padrão}) \times 1000\text{‰} \quad (1)$$

Onde:

$\delta^{15}\text{N}$ = Abundância natural de ^{15}N , em partes por mil (‰)

$R \text{ amostra}$ = Relação entre a quantidade de átomos de ^{15}N e de ^{14}N na amostra testada (átomos % de ^{15}N na amostra)

$R \text{ padrão}$ = Relação entre a quantidade de átomos de ^{15}N e de ^{14}N na amostra do ar atmosférico (átomos % de ^{15}N no N_2 do ar)

2.2.2 QUANTIFICAÇÃO DA CONTRIBUIÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE N_2 ATRAVÉS DA TÉCNICA DA ABUNDÂNCIA NATURAL DE ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$)

Shearer e Kohl (1986) apresentaram claramente as vantagens e as desvantagens da aplicação desta técnica na quantificação da contribuição da FBN associada a plantas, e apontaram a sua potencialmente maior aplicabilidade em sistemas agrícolas que em sistemas naturais. Para isso, existem duas pressuposições principais que devem ser atendidas para o uso da técnica:

- 1- Duas fontes de N (por exemplo, N-mineral do solo e N_2 do ar), no máximo, podem ser discriminadas por esta técnica, e a abundância natural de ^{15}N das mesmas não deve variar no período de avaliação.
- 2- A diferença da abundância natural de ^{15}N entre as fontes de N em estudo deve ser maior que a variabilidade causada pelo erro aleatório (amostragem, analítico, etc.).

Porém, dentro de ambas pressuposições existem umas séries de fatores que se distribuem, desde o processo de tomada das amostras a serem avaliadas até a metodologia de interpretação dos resultados (Peoples et al., 1995). Diversos autores avaliaram a possibilidade da aplicação desta técnica para a estimativa da FBN tanto em

sistemas agrícolas quanto naturais, como os publicados recentemente por Boddey et al. (2000); Handley e Scrimgeour (1997); Peoples e Herridge (2000). Boddey et al. (2001) e Robinson, (2001).

Desde a publicação do trabalho de Shearer e Kohl (1986), diversos autores apresentaram-se céticos quanto à aplicabilidade da técnica para a detecção e quantificação da FBN nestes sistemas, no entanto, atualmente admite-se que em sistemas agrícolas esta técnica é apontada como uma potente e eficiente ferramenta para a estimativa deste processo *in situ*, principalmente em plantas que recebem elevada contribuição da FBN para a acumulação de N e plantas não leguminosas de importância agrônômica tais como milho, arroz, cana-de-açúcar, entre outras (Shearer e Kohl, 1992, Boddey et al., 2001). A seguir, são discutidos os princípios práticos da aplicação da técnica de $\delta^{15}\text{N}$ e os fatores que determinam a problemática de cada etapa para a sua aplicação na avaliação da contribuição da FBN para plantas em sistemas agrícolas e naturais.

2.2.3 PRINCÍPIO PRÁTICO DA TÉCNICA DA QUANTIFICAÇÃO CONTRIBUIÇÃO DA FBN ASSOCIADA A PLANTAS, ATRAVÉS DA TÉCNICA DE $\delta^{15}\text{N}$.

O princípio prático desta técnica para a estimativa da contribuição da FBN associada às plantas é que se pode evidenciar a proporção do N-acumulado pela planta proveniente de cada uma das duas fontes, a disponível no solo e a proveniente do ar atmosférico através da FBN, a partir da diferença entre a abundância natural de ^{15}N do N ($\delta^{15}\text{N}$). Portanto, para a estimativa da contribuição da FBN para a nutrição da planta é necessário que se estabeleça a abundância de ^{15}N na porção disponível do N no solo, uma vez que a abundância natural de ^{15}N no ar atmosférico apresenta $\delta^{15}\text{N}$ igual a zero (Mariott, 1983; Shearer e Kohl, 1986), como se segue (2):

$$\% \text{Ndfa} = \left(\frac{(\delta^{15}\text{N} - \text{disponível do solo} - \delta^{15}\text{N planta teste})}{\delta^{15}\text{N disponível do solo}} \right) \times 100 \quad (2)$$

onde:

%Ndfa = Fração do N acumulado pela planta derivado do processo de FBN

$\delta^{15}\text{N}$ do solo = Valor de $\delta^{15}\text{N}$ do N-disponível no solo assimilado por plantas que não recebem contribuição da FBN.

$\delta^{15}\text{N}$ da planta teste = Valor de $\delta^{15}\text{N}$ da planta que potencialmente recebe contribuição da FBN.

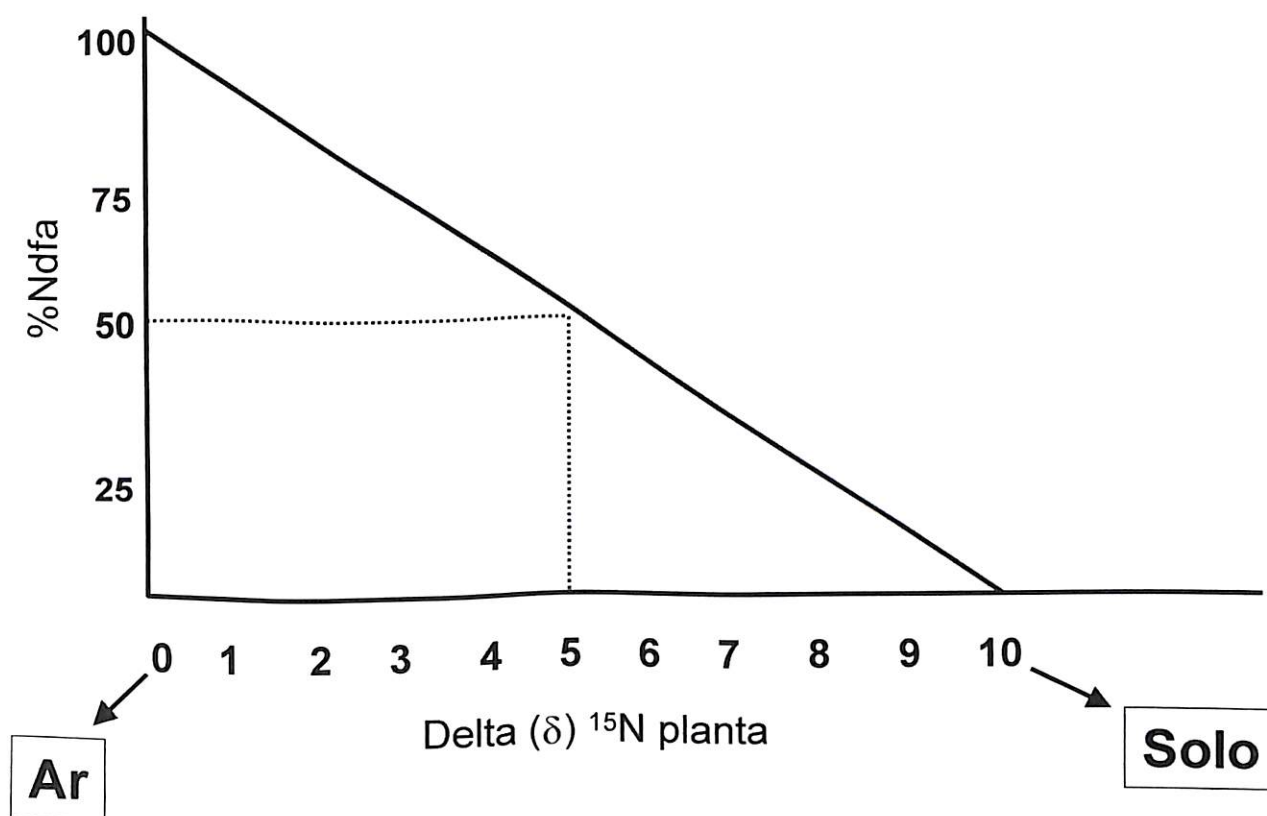


Figura 02 – Ilustração da estimativa da contribuição da FBN associada a plantas baseada na aplicação teórica da fórmula sugerida por Shearer e Kohl (1986).

Exemplificando, a Figura 02 ilustra a quantificação da contribuição da FBN para plantas (%Ndfa) cultivadas em um solo cujo valor estimado do $\delta^{15}\text{N}$ na fração disponível do solo seria de 10‰. O valor observado de $\delta^{15}\text{N}$ na planta teste foi de 5‰, e considerando-se que o valor de $\delta^{15}\text{N}$ do N_2 do ar é de 0‰ (Mariotti, 1983), a contribuição teórica da FBN para estas plantas seria de 50%, através da aplicação da fórmula (02), supracitada.

2.2.4 FATORES QUE INFLUENCIAM APLICAÇÃO DA TÉCNICA DE $\delta^{15}\text{N}$ PARA A QUANTIFICAÇÃO DA FBN EM SISTEMAS AGRÍCOLAS

2.2.4.1 ESTIMATIVA DO VALOR DO $\delta^{15}\text{N}$ DA FRAÇÃO DISPONÍVEL DO N NO SOLO

As características da dinâmica da fração do N do solo que é disponível para as plantas, a qual apresenta como principais espécies químicas amônio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) e, supostamente, formas orgânicas de baixo peso molecular, a tornam extremamente variável, dificultando sua determinação e relacionamento com o conteúdo acumulado pelas plantas. Além disso, o fenômeno da discriminação isotópica do ^{15}N (β_{obs}) ocorre em intensidades diferentes nos processos de formação destas frações do N-disponível no solo, o que pode acarretar variações verticais e horizontais do valor de $\delta^{15}\text{N}$ disponível no perfil do solo. Estas características podem limitar a estimativa exata do valor do $\delta^{15}\text{N}$ da fração disponível no solo principalmente pelos seguintes fatores:

- 1- Dificuldade de se obter um extrator adequado para esta fração, principalmente quando se considera a determinação de isótopos, por motivo da discriminação isotópica entre ^{14}N e ^{15}N .
- 2- A baixa concentração de ^{15}N no solo, que dificilmente poderia ser detectada pelo espectrômetro de massas, pois a massa de solo a ser utilizada na análise seria acima da capacidade de processamento do mesmo (Boddey et al., 1995).
- 3- A determinação da abundância natural de ^{15}N no solo estima uma condição pontual, ou seja, a relação isotópica de N na fração disponível no momento da amostragem, o que não integra as variações ocorridas do ^{14}N e do ^{15}N no solo durante o período de cultivo das plantas na cultura avaliada.
- 4- A profundidade e o números de amostras a serem feitos não poderia ser padronizado, uma vez que variaria em função das características e propriedades do solo e do volume profundidade do solo explorado pelas raízes da planta testada naquele solo.

2.2.4.2 ESTRATÉGIAS PARA A ESTIMATIVA DO $\delta^{15}\text{N}$ DISPONÍVEL DO SOLO

Há, atualmente, consenso que a melhor forma de estimar o valor do $\delta^{15}\text{N}$ disponível no solo seria a determinação da abundância de ^{15}N em plantas de ocorrência natural (vegetação espontânea), nas quais não se verificou cientificamente existir significativa contribuição do processo de FBN na sua nutrição nitrogenada (Shearer e Khol, 1986; 1992; Boddey et al., 2001). Estas plantas seriam consideradas “testemunhas” e evidenciariam a abundância de ^{15}N integrando o período de cultivo e devem ser cultivadas juntamente com a “planta teste”, agindo como um extrator adequado no solo.

No entanto, a planta testemunha necessita não só apresentar ausência de contribuição do N_2 do ar pela FBN, mas também explorar no solo o mesmo “pool” de N, a princípio de forma qualitativa, ou seja, a quantidade da fonte de N do solo. Em sistemas agrícolas, esta possibilidade pode ser bastante reduzida principalmente pelo fato de o manejo da lavoura com uso de herbicidas, eliminar a maioria das plantas sem interesse econômico (vegetação espontânea).

Outro ponto importante é que a planta testemunha deveria acumular o N com uma taxa similar à planta teste, eliminando os efeitos das variações do $\delta^{15}\text{N}$ nas espécies químicas da fração disponível do N, pois as transformações do N no solo são muito influenciadas pelas condições ambientais, e podem ocorrer modificações marcantes no $\delta^{15}\text{N}$ utilizado pelas plantas durante o ciclo de vida das plantas. Além disso, como o valor de $\delta^{15}\text{N}$ de uma mesma fonte de N pode variar com a profundidade do solo, as plantas comparadas deveriam manter arquitetura radicular semelhante, no que diz respeito à profundidade e volume do solo explorado. Neste caso, o uso do maior número possível de plantas testemunhas, de diferentes espécies e/ou famílias, parece ser a melhor maneira de “revelar” o valor de $\delta^{15}\text{N}$ disponível no solo, mesmo por que a idéia de se cultivar plantas de mesma espécie apenas diferindo da capacidade de receber N via FBN, como é feito com diversas leguminosas, onde se utilizam plantas mutantes sem capacidade de nodulação, não garantem uniformidade na exploração do solo entre as plantas comparadas, que dependerá do nível de N-disponível no solo, por exemplo (Yoneyama et al., 1986; Dough et al., 1992; Unchovich et al., 2000).

2.2.4.3 COMPARAÇÃO ENTRE O $\delta^{15}\text{N}$ DAS PLANTAS TESTEMUNHAS (DISPONÍVEL DO SOLO) E NAS PLANTAS TESTE.

A estimativa da contribuição FBN para associada a plantas utilizando-se “plantas testemunhas” como extratores do N do solo é feita utilizando-se a diferença entre os valores de $\delta^{15}\text{N}$ observados nestas plantas e o da “planta teste”, como se segue: (3).

$$\%Nfda = \left(\frac{(\delta^{15}\text{N}_{\text{planta testemunha}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{planta teste}})}{(\delta^{15}\text{N}_{\text{planta testemunha}} - B)} \right) \times 100 \quad (3)$$

Onde:

$\%Nfda$ – Fração do N acumulado pela planta derivado do processo de FBN

$\delta^{15}\text{N}$ da planta testemunha – Valor de $\delta^{15}\text{N}$ do N-disponível no solo assimilado por plantas que não recebem contribuição da FBN.

$\delta^{15}\text{N}$ da planta teste - Valor de $\delta^{15}\text{N}$ da planta teste.

B – Valor da discriminação isotópica de ^{15}N feita pela “planta teste” na distribuição do N derivado da FBN entre a raiz e a parte aérea (Ver Peoples et al., 2001).

Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ observados nas “plantas testemunhas” e a “planta teste” devem ser diferenciados através de testes estatísticos, e a fórmula (3) aplicada apenas quando os valores de $\delta^{15}\text{N}$ destas plantas são significativamente diferentes (Polidoro, 2000; Boddey et al., 2001). Desta forma haverá a possibilidade de se distinguir a diferença do $\delta^{15}\text{N}$ das duas fontes de N disponível para a “planta teste” (Solo e ar atmosférico) daquela causada pelo acaso, ou seja o erro aleatório (estimado pelo desvio padrão da média). Para isso, o valor de $\delta^{15}\text{N}$ do N-disponível no solo deve apresentar valor o mais diferente possível de zero. Alguns autores discutem que este valor deveria ser maior que +2‰, que seria o valor equivalente ao valor modular médio do “valor B” na maioria das plantas leguminosas (Peoples e Herridge, 1989; Sherer e Kohl, 1992). De uma maneira geral, a distinção da variação ao acaso observadas em cultivos agrícolas em solos com valor de $\delta^{15}\text{N} < 5\text{‰}$ pode impedir a detecção e estimativa de contribuições modestas da FBN (Hogberg, 1997; Biggs, et al. 2001).

Em sistemas agrícolas, as práticas de manejo do solo fazem com que a dinâmica do N seja mais intensa que em sistemas naturais, e como a maioria dos processos de transformação do N no solo apresentam discriminação do ^{15}N , espera-se que o valor de $\delta^{15}\text{N}$ do N no solo seja diferenciado do $\delta^{15}\text{N}$ do N_2 atmosférico nestes sistemas que em solos em sistemas naturais. Além disso, os valores de $\delta^{15}\text{N}$ nos solos tendem a serem sempre positivos, pois nos principais processos de perdas de N do solo (desnitrificação, volatilização de amônio) o valor de β_{obs} (coeficiente de discriminação isotópica de ^{15}N (Peoples et al., 1992) é maior que um, significando que haverá maior perda relativa de ^{14}N em relação ao ^{15}N do solo durante estas transformações, aumentando a abundância de ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$ positivo) no solo (Figura 01). Em sistemas agrícolas do Brasil, estes valores de $\delta^{15}\text{N}$ na fração disponível do solo, estimados pela análise de plantas de ocorrência natural nas lavouras, variaram entre 4,5 e 26‰ (Yoneyama et al., 1997; Resende, 2000; Polidoro, 2001), o que possibilita, em parte, a aplicação desta técnica para estimar a contribuição da FBN associada a plantas utilizando a fórmula proposta por Shearer e Kohl (1986) (3).

2.2.4.4 FRACIONAMENTO ISOTÓPICO DO N NA PLANTA TESTE (VALOR B)

Shearer et al. (1980) primeiramente demonstraram que, de acordo com o tipo de planta que está recebendo N proveniente da FBN, pode ocorrer o fracionamento isotópico do ^{15}N no momento da transferência deste nitrogênio para as partes da planta onde não ocorrem sítios de FBN (Kohl et al, 1983). Este fenômeno ocorre normalmente em plantas leguminosas que transportam o N_2 -fixado para a sua parte aérea com depleção de ^{15}N nos compostos ($\delta^{15}\text{N}$ negativo) (Ureídos ou Asparagina) resultando em maiores valores de $\delta^{15}\text{N}$ nos nódulos ($\delta^{15}\text{N}$ positivo) e conseqüentemente menores valores na parte aérea das plantas. A intensidade deste fracionamento isotópico pode ser estimada em plantas crescidas em condições hidropônicas em solução nutritiva isenta de N (Kohl et al., 1980, Doughth et al., 1992). A resultante deste fracionamento isotópico é denominada “valor B”, que é extremamente importante para a estimativa da FBN evitando, normalmente, superestimativas da contribuição do processo de FBN na nutrição da planta, por este método (Peoples et al., 1995). É importante que seja feita a

estimativa do “valor B” específico para cada espécie de planta que recebe N do processo de FBN (Dough et al., 1992). Em leguminosas este valor não varia apenas entre as espécies, mas também com a de bactéria associada á planta, e parece ser menos dependente do nível de contribuição da FBN para a planta (Bergersen et al., 1986, Ledgard, 1989).

Estudos realizados recentemente para a avaliação da contribuição da FBN em plantas não leguminosas por esta técnica (Boddey et al., 2001, Biggs et al. 2001) observaram não haver discriminação isotópica de ^{15}N quando plantas de cana-de-açúcar foram cultivadas em solos de disponibilidade de N-mineral extremamente baixa ($<0,001\%$). Para a cultura da cana-de-açúcar, e possivelmente para outras gramíneas, o “valor B”, atualmente, poderia ser considerado como sendo igual a zero. Nestas culturas, estima-se que, quando existem, os sítios de FBN estarão homogeneamente distribuídos na planta, quando são considerados os resultados obtidos com o estudo da ecologia e distribuição das bactérias diazotróficas em plantas não leguminosas tais como milho, arroz e cana-de-açúcar (Olivares, et al., 1997; Reis et al, 2000).

2.2.4.5 FORMAS DE N DISPONÍVEL NO SOLO EM SISTEMAS AGRÍCOLAS

Em sistemas agrícolas, a fonte de N disponível para as plantas no solo é mais homogênea que em sistemas naturais, com predominância da espécie química nitrato (NO_3^-), uma vez que é comum a prática da correção da acidez do solo e da manutenção dos teores de umidade próximos á capacidade de campo, favorecendo o processo de nitrificação (Paul e Clark, 1997). Além da nitrificação, que causa discriminação isotópica do ^{15}N no solo, outro importante processo de transformação do N a ser considerado em sistemas agrícolas é a desnitrificação, que pode causar também variações no $\delta^{15}\text{N}$ do N disponível no solo (Shearer e Kohl, 1986). Nesta situação, a planta testemunha deverá apresentar elevado potencial de utilizar NO_3^- , que pode ser indicado pela estimativa da atividade de redução de nitrato nesta planta, com a elevação do teor deste ânion no solo (Garten Jr., 1993). Alguns autores demonstraram que plantas com baixa atividade de redução de NO_3^- , nestas condições, não apresentaram $\delta^{15}\text{N}$ relacionado com o do N-mineral do solo, podendo haver um fracionamento isotópico do NO_3^- dentro da planta. Este fenômeno é atribuído ao possível fracionamento isotópico do ^{15}N na absorção N pela planta, sendo considerado mais um fator de variabilidade no

valor de $\delta^{15}\text{N}$ em diferentes plantas testemunhas (Doughton et al., 1992; Bremmer et al., 1993).

Um efeito da adição de amônia como N-fertilizante no valor de ^{15}N disponível no solo, seria restrito a solos cultivados em regiões de clima temperado, pois possuem elevada quantidade de cargas negativas em sua fração mineral, nos quais poderia haver a discriminação isotópica do ^{15}N que seria menos adsorvida pela superfície do solo, e principalmente ficando o ^{14}N adsorvido especificamente nas camadas dos minerais silicatados do tipo 2:1, indisponíveis (Mitchell et al., 1993)

Se o processo de nitrificação é estimulado em sistemas agrícolas, seria importante também avaliar as formas de N que são introduzidas no solo, seja como fertilizantes químicos inorgânicos ou orgânicos (adubação verde e resíduos culturais na rotação de cultura) (Hossain et al., 1995). Além disso, o tipo de manejo do solo, com movimentação do solo (manejo convencional), ou não (manejo em plantio direto), também deverá ser considerado da avaliação do potencial da aplicação da técnica de $\delta^{15}\text{N}$ para a estimativa da contribuição da FBN para as plantas cultivadas.

Em culturas como a soja e algumas outras leguminosas utilizadas como adubo verde, as quais apresentam elevada eficiência da obtenção de N via FBN, a aplicação da técnica de $\delta^{15}\text{N}$ é apontado na literatura como sendo tão eficaz quanto à técnica da diluição isotópica de ^{15}N , inclusive com vantagens de não apresentar certos problemas da mesma, como a instabilidade da abundância de ^{15}N (marcação) do solo durante o cultivo (Domenach et al., 1989). Diversos autores comprovam a eficácia da técnica de $\delta^{15}\text{N}$ para estimar a contribuição da FBN nestas culturas principalmente pela não aplicação de N-fertilizante, que teoricamente, poderia causar modificações no valor do $\delta^{15}\text{N}$ do N-disponível no solo, durante o cultivo (Unchovich et al., 2000).

2.2.4.6 ADIÇÃO DE N-FERTILIZANTE

A interferência do uso de fertilizantes nitrogenados na estimativa da FBN pela técnica de $\delta^{15}\text{N}$ é estudada em culturas de plantas não leguminosas que apresentam potencial de receber contribuição do processo de FBN mas que ainda se aplica este fertilizante. Esta interferência é relativa à modificação no valor de $\delta^{15}\text{N}$ na fração disponível do solo para as plantas. A mesma dependerá, primariamente, do nível de fertilizante aplicado ao solo, da composição da fonte do fertilizante, do valor de $\delta^{15}\text{N}$ do

fertilizante e de características do solo relativas ao “pool nativo” de N do solo (teor de N-total do solo) (Hogberg, 1997). Neste sentido, torna-se essencial que a planta escolhida como testemunha (fórmula (3)) apresente características semelhantes à planta teste, como descrito por Shearer e Kohl, (1986) e Boddey et al., (2001) para que se integrem as variações ocorridas no N absorvido do solo tanto pelas “plantas testemunhas” e “testes”.

A aplicação de doses elevadas de N-mineral no solo (acima de 100 kg/ha de N) tem sido causa uma depleção inicial do $\delta^{15}\text{N}$ do solo, primeiramente por ser o valor de $\delta^{15}\text{N}$ do fertilizante igual ou menor que zero, e que, por efeito de concentração, “diluiria” o $\delta^{15}\text{N}$ do solo. Diversos estudos mostram que os valores de ^{15}N das plantas testemunhas e da planta teste diminuem drasticamente logo após a aplicação do N-fertilizante, mas que é recuperada rapidamente em ambas as plantas (Hogberg, 1997). Possivelmente, a nitrificação ($\beta_{\text{obs}} > 1,000$) atua como causa da queda do valor de $\delta^{15}\text{N}$ no solo inicialmente, mas pode ser compensado pelo processo de desnitrificação ($\beta_{\text{obs}} > 1,000$), que elevaria novamente o valor de $\delta^{15}\text{N}$ no N-disponível no solo (Kohl e Shearer, 1995).

No entanto, em sistemas de plantio direto, este efeito da nitrificação no valor de $\delta^{15}\text{N}$ no solo possivelmente é mais prolongado, uma vez que o processo de desnitrificação seria inibido, pelo efeito negativo deste manejo na formação de sítios de desnitrificação e pela diminuição da quantidade de carbono orgânico disponível para as bactérias desnitrificantes, quando da não incorporação da palhada ao solo. Por outro lado, a perda de N por volatilização do NH_3 ($\beta_{\text{obs}} > 1,000$), quando o fertilizante aplicado contiver esta forma de N, poderá ser mais elevado neste tipo de manejo e compensar desta maneira o efeito isotópico da nitrificação. O principal efeito da aplicação do N-fertilizante em quantidades elevadas na estimativa da FBN pela técnica seria a possível inibição completa do processo ocasionada pela elevação do teor de N-mineral no solo (Feigin et al., 1974, Turner, et al., 1987).

A aplicação de quantidades intermediárias de N-fertilizante (~50 kg/ha de N) poderia causar efeitos semelhantes ao das doses mais elevadas, no entanto, outra possibilidade discutida é que esta pequena quantidade de N adicionada ao solo possa funcionar como efeito “primer” no solo, e agiria estimulando a atividade saprofítica dos microrganismos do solo e mineralizando o N da matéria orgânica do solo, e

possivelmente, até elevando o valor de $\delta^{15}\text{N}$ na fração mineral do solo (Turner et al., 1983, Feigen et al., 1974). Neste sentido, o nível de matéria orgânica do solo é decisivo para que se possa predizer sobre o efeito do N-fertilizante no valor de $\delta^{15}\text{N}$ da fração mineral do solo. Este efeito “primer” poderia ser mais evidente em sistemas de manejo do solo em plantio direto, mas a variação do valor do $\delta^{15}\text{N}$ na fração mineral do solo seria influenciada pelo tipo de resíduo orgânico deixado no solo no sistema de rotação de culturas, por exemplo, o efeito que uma fonte orgânica obtida por resíduos de leguminosas terá, possivelmente, valores de $\delta^{15}\text{N}$ bem menores que de gramíneas tipo trigo, milho e outras (Hossain et al., 1995).

Aplicações de doses de fertilizantes nitrogenados não muito elevadas, mesmo na forma de amônia, como ocorre na cultura da cana-de-açúcar (60 kg/ha na forma de uréia), onde as condições do solo favorecerem a nitrificação, toda a amônia pode ser transformada em NO_3^- , e evitando assim o efeito da discriminação isotópica do ^{15}N , uma vez que todo o substrato (NH_4^+) será transformado em produto (NO_3^-) (Nõmmik, H. et al., 1994). Aliado a isso, o efeito “primer” e as perdas por volatilização do NH_4^+ , que podem ocorrer de forma elevada, eliminando a possibilidade de o fertilizante nitrogenado inviabilizar a aplicação da técnica de $\delta^{15}\text{N}$ para detecção e estimativa da FBN associada à cana-de-açúcar, e possivelmente a outras plantas não leguminosas. Além disso, a quantidade de N proveniente do fertilizante seria reduzida em relação ao total acumulado pela planta (~150 kg/ha) diminuindo as possibilidades de detecção equivocada e superestimativa da contribuição da FBN na nutrição nitrogenada de culturas como a cana-de-açúcar. Em países como Cuba, Estados Unidos e Austrália, onde se aplicam doses elevadas deste fertilizante na cultura da cana-de-açúcar (acima de 150 kg/ha de N) predominantemente na forma de uréia (Boddey et al., 1995, Biggs et al., 2001), a aplicabilidade desta técnica para a estimativa da contribuição da FBN seria limitada, principalmente pelo efeito de elevados níveis de absorção de N-mineral disponível do solo na atividade diazotrófica das bactérias associadas à planta.

2.2.4.7 ASSOCIAÇÕES MICORRÍZICAS

Outro fator que pode dificultar a aplicação desta técnica para quantificar a contribuição da FBN associada a plantas é a discriminação isotópica do ^{15}N ocasionada pelas associações micorrízicas nas plantas teste e testemunhas. Geralmente, raízes

micorrizadas discriminam mais o ^{15}N que aquelas não micorrizadas, podendo causar uma diminuição do $\delta^{15}\text{N}$ em ambas as plantas, subestimando ou superestimando a contribuição da FBN para a planta teste (Bodey et al, 2000). Atribui-se a isso, em parte, à possível utilização de formas de N-orgânico solúveis na solução solo pelos fungos micorrízicos e posteriormente transferidos para a planta a qual não seria utilizada por plantas não micorrizadas (Hood, 2000). Neste caso, além de ser outra fonte de N para a planta que poderá apresentar diferente valor de $\delta^{15}\text{N}$, a transferência do N do fungo micorrízico para a planta pode ocorrer o fracionamento isotópico do ^{15}N . Inclusive, o tipo de associação micorrízica pode causar maior ou menor discriminação isotópica na planta, sendo as ectomicorrizas que potencialmente causam maiores discriminações isotópicas do ^{15}N , podendo ser explicadas também pela elevação do volume de solo explorado por estas plantas (Handley et al., 1993, Pate et al., 1993)

Em sistemas agrícolas, espera-se que a forma predominante de associação micorrízica seja a do tipo endomicorriza, quando for efetiva, pois dependerá principalmente das condições de disponibilidade de fósforo no solo. Talvez a disponibilidade adequada deste nutriente no solo diminuiria este efeito do fracionamento isotópico causado por esta associação, pois há de se considerar aqui a dependência micorrízica das plantas na aplicação da técnica de $\delta^{15}\text{N}$ (Hogberg, 1982).

2.3 O MOLIBDÊNIO

2.3.1 O MOLIBDÊNIO NOS SISTEMAS BIOLÓGICOS

Os primeiros estudos que verificaram a participação e a importância do Mo nos processos biológicos ocorreram no início do século passado. Sua importância em sistemas biológicos foi comprovada em estudos do efeito benéfico no processo de fixação biológica de N_2 na bactéria *Azotobacter chroococcum* (Horner et al., 1942), na utilização do nitrogênio mineral (NO_3^-) por fungos do gênero *Aspergillus niger* (Steinberg, 1936, 1937), em plantas (Arnon & Stout, 1939), animais (Newton e Otsuka, 1980) e em algas verdes (Arnon, et al., 1955). O avanço das técnicas em estudos de bioquímica e fisiologia evidenciou que o Mo é um constituinte essencial de várias enzimas em plantas e microrganismos que participam de processos metabólicos primários no seu ciclo de vida, principalmente a redutase do nitrato em plantas e

microrganismos e nitrogenase em microrganismos (Gupta e Lipset, 1981). Estas descobertas possibilitaram a consideração do Mo como elemento químico essencial para os organismos que apresentam estas duas enzimas em seu metabolismo, portanto, um nutriente.

Neste contexto, as plantas cultivadas que apresentam como fontes de nitrogênio principal na sua nutrição o nitrogênio mineral do solo na forma de nitrato (NO_3^-) ou tem associado o processo de fixação biológica do N_2 (FBN) apresentam dependência do fornecimento adequado deste nutriente para alcançar elevada produtividade. E a pesquisa agrônômica demonstra historicamente que a nutrição nitrogenada de várias culturas depende do fornecimento adequado de Mo para as plantas. No entanto, a importância da nutrição molíbdica dependerá primariamente do tipo de nutrição nitrogenada da planta. Esta importância é considerada mínima em sistemas onde a forma de N-mineral utilizada pela planta cultivada é o amônio (NH_4^+) do solo, até a máxima em plantas que recebem parte do N na forma de NO_3^- e a outra do processo de FBN associado por bactérias diazotróficas. No entanto, considerando-se que a maioria das plantas cultivada tem suas variedades comerciais desenvolvidas em programas de melhoramento executados em solos que têm a acidez e pH corrigido, o primeiro caso de dependência da nutrição molíbdica citado acima é considerado irrelevante, sendo que nestas condições a forma de N-mineral predominante no solo é o NO_3^- resultante das condições adequadas para a nitrificação do NH_4^+ por bactérias, principalmente.

As plantas que dependem do processo de FBN para a sua nutrição apresentam nível crítico de Mo mais elevado do que as que dependem exclusivamente de nitrato do solo. Segundo Shah et al. (1981) a concentração de Mo na enzima nitrogenase é de 0,07 a 0,08%, enquanto que na redutase do nitrato é de 0,04 a 0,06%, evidenciando a maior necessidade de se fornecer Mo para plantas dependentes do processo de FBN que as que dependem da redução do nitrato. Além disso, a atividade específica e eficiência de catálise da nitrogenase são extremamente menores que a da redutase do nitrato, fazendo com que além de a nitrogenase apresentar maior concentração de Mo, seria necessária síntese de maior quantidade de enzima nitrogenase para o fornecimento da mesma quantidade de N-assimilável (N-NH_4^+) para planta. Por isso, que possivelmente o nível crítico de Mo nas plantas de leguminosas tais como trevo, 0,3-1,59 mg/kg (Gupta, 1970); soja, 0,5-1,0 mg/kg (Bergman, 1992) e feijão, 0,5 –1,0 mg/kg (Jacob-Neto,

1985), em geral é bem mais elevado que em outras culturas, como cevada, 0,09- 0,18 mg/kg, (Johnson, et al., 1952); trigo, 0,09-0,18 mg/kg, (Gupta, 1971); milho, 0,2-0,5 mg/kg, (Vos, 1993); batata, 0,2 – 0,5 mg/kg, (Bergman, 1992); alface, 0,08-0,14 mg/kg, (Plant, 1951 citato por Gupta, 1978). Considerando apenas estas características, pode-se inferir de uma maneira generalizada, que a importância da nutrição molibídica para as plantas que dependem da FBN é bastante mais elevada, sendo determinante a adoção de práticas que detectem limitações na disponibilidade deste nutriente no solo.

Por outro lado, há de se considerar o requerimento de Mo nas culturas que utilizam predominantemente o NO_3^- é dependente da disponibilidade deste nutriente no solo. Diversos trabalhos demonstram que a enzima redutase do nitrato é estimulada pela elevação da concentração do NO_3^- nos sítios de atividade desta enzima (folhas e raízes), e conseqüentemente eleva o requerimento de Mo pela planta (Agarwala e Hewitt, 1955), e existe uma estreita correlação positiva entre a atividade da redutase do nitrato e concentração de Mo planta (Hew e Chai, 1984). Inclusive, o nível crítico de Mo na planta será modificado nestas plantas também pela idade da planta e acompanha a curva de absorção de N pela planta, coincidindo o nível crítico máximo com a máxima absorção do N. Este fator torna-se importante para a tomada de decisão de aplicação do Mo-fertilizante de acordo com o estágio de crescimento das plantas.

No caso das plantas que dependem predominantemente da FBN em sua nutrição, o fornecimento de Mo para a planta seria crítico também na fase inicial do ciclo da cultura, pois é sabido que para um bom estabelecimento da simbiose entre a planta e a bactéria diazotrófica, é imprescindível que uma quantidade mínima de N-mineral seja fornecida pelo solo, para que a planta possa se estabelecer até que o processo de FBN possa ocorrer. Por isso, uma das mais recomendadas e adequadas práticas de fornecimento de Mo para leguminosas é via semente, seja produzindo sementes ricas em Mo, como demonstrado por Jacob e Franco (1995), ou pelo peletização das sementes no momento do plantio.

O modelo de planta com metabolismo mineral do N intermediário com relação à fonte de N, ou seja, recebe contribuições significativas tanto do NO_3^- do solo quanto da FBN, pode ser exemplificado pela cultura da cana-de-açúcar, principalmente no Brasil. Considerando que a planta recebe entre 30 e 50% do N-total acumulado do processo de

FBN e o restante do solo, é possível que a dinâmica do requerimento de Mo seja distinto dos citados acima.

O nível crítico de Mo nas plantas de cana-de-açúcar é atualmente admitido estar entre 0,15 a 0,30 mg/kg (Malavolta et al., 1997). Entretanto, a maioria dos estudos realizada considera a planta de cana-de-açúcar como um modelo totalmente dependente de NO_3^- do solo, e possivelmente os trabalhos que consideram a FBN como fonte efetiva de N para esta planta devem considerar também a nutrição molibídica desta planta de maneira diferenciada. Por exemplo, atribui-se às bactérias diazotróficas da rizosfera parte da contribuição da FBN para estas plantas, a outra seria realizada por bactérias endofíticas. Aquelas dependem intensamente da atividade do sistema radicular da planta e por isso dependeriam de um adequado desenvolvimento do mesmo, principalmente na fase inicial do ciclo da planta. Seria então necessário um fornecimento de NO_3^- para a planta de cana-de-açúcar no estabelecimento da planta, para que haja o crescimento vegetativo adequado, com exploração adequada do solo e formação de aparato fotossintético com o desenvolvimento das folhas. Portanto, o mais aceitável seria a nutrição nitrogenada da planta na fase inicial do ciclo ser predominantemente nítrica, sendo necessário o fornecimento adequado de Mo nesta fase.

Uma alternativa para garantir o fornecimento de Mo para a planta nesta fase seria o enriquecimento dos colmos utilizados como material propagativo no plantio da lavoura, através da prática semelhante à realizada na produção de sementes de soja e feijão, nas quais se aplicam doses de Mo acima do nível crítico da planta para que ocorra um acúmulo nos deste micronutriente, funcionando como reserva. Este procedimento é razoavelmente seguro para o Mo, uma vez que o limite crítico de toxidez deste micronutriente para a maioria das culturas é até 1000 vezes maior que o nível crítico na planta (Vidor e Perez, 1988, Gupta, 1997). Este mesmo procedimento poderia ser adotado para os ciclos seguintes (cana-soca), no entanto, deve-se ressaltar que deverá se ter cautela maior, pois dependendo do uso dos colmos, por exemplo, na alimentação animal, elevadas concentrações de Mo (acima de 5,0 mg/kg Gupta e Lipset, 1981) poderia causar graves problemas na saúde destes animais, pelo antagonismo que o Mo em excesso causa na absorção de cobre pelo organismo, ocasionando o desenvolvimento da doença animal conhecida por molibdenose.

Inferese que o processo de FBN na cultura da cana-de-açúcar é dependente da atividade da redutase do nitrato na planta, formula-se a hipótese de que a FBN nesta cultura só contribui efetivamente para a nutrição nitrogenada após o estabelecimento adequado das plantas, para que haja possibilidade de se estabelecer a relação mutualista entre a planta e as bactérias diazotróficas. Este ponto de vista traduz-se na visão de que em solos extremamente pobres em N há a necessidade de se utilizar uma fonte deste nutriente para o estabelecimento da cultura, que não necessariamente seria o fertilizante nitrogenado mineral, e sim práticas de manejo que incluam a possibilidade da adubação verde neste sistema, por exemplo (Resende, 2000).

Os efeitos do fornecimento adequado de Mo para as plantas em geral não se resumiriam apenas ao metabolismo do N nas mesmas, uma vez que a literatura mostra evidências do efeito benéfico do Mo na nutrição fosfatada e sulfatada e do ferro na planta. Este fator é bastante importante, uma vez que estes nutrientes são essenciais também para a utilização do NO_3^- e significativa contribuição da FBN para a nutrição nitrogenada das plantas. Bashad, (1951) num trabalho pioneiro, observou interação positiva entre o Mo e o P, e inferiu que poderia haver um efeito sinérgico entre estes nutrientes no processo de absorção dos mesmos, pela formação de complexos fosfomolibdatos, mais facilmente absorvidos pela planta. Por outro lado, plantas de tomateiro apresentaram aumento da concentração de Mo em condições de baixa disponibilidade de P e de S, possivelmente concorrendo com sítios de absorção específicos na membrana das células (Barber, 1984; Hewinkel et al. 1992).

Por outro lado, o Mo participa do metabolismo do S em plantas na oxidação do sulfito em sulfato, através da enzima sulfito oxidase (Ochiai, 1987), que será utilizado na biossíntese do aminoácido cisteína, essencial para em plantas que produzem grãos ricos em óleo, como soja e girassol. Além desta, enzima o Mo participa, com as mesmas funções bioquímicas que nas enzimas RN e NA, de diversas enzimas em plantas e microrganismos (Quadro 01).

Quadro 01: Algumas enzimas Mo-dependentes em diferentes grupos de organismos (Adaptado de Mendel, e Schwarz, 1999).

Sistema enzimático	Reação Catalisada	Ocorrência
Nitrogenase	$N_2 \longrightarrow NH_3$	Bactérias diazotróficas
Redutase do Nitrato	$NO_3^- \longrightarrow NO_2^-$	Plantas e microrganismos
Xantina Oxidase	$XH \longrightarrow XOH + H_2O_2$	Microrganismos, pássaros, animais mamíferos e insetos
Xantina desidrogenase	$XH \longrightarrow X \longrightarrow XOH$	Microrganismos, plantas, pássaros, animais mamíferos e insetos
Aldeído oxidase	$RCHO \longrightarrow RCOOH + H_2O_2$	Animais mamíferos
Sulfito oxidase	$SO_3^- + H_2O \longrightarrow SO_4^- + 2H^+ + 2e^-$	Pássaros, animais e plantas

Ao todo, o Mo participa da catálise de mais que trinta enzimas (Mendel, e Schwarz, 1999), algumas delas muito importantes para o metabolismo das plantas, além da redutase do nitrato. Aldeído oxidase recentemente foi comprovado catalisar o último passo na biossíntese de fitormônios como ácido indol acético (AIA) e ácido abscísico (ABA), hormônios essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas.

Xantina desidrogenase, é uma enzima que está envolvida no catabolismo das purinas e, é uma enzima muito importante para as plantas leguminosas, efetivamente aquelas que transportam o nitrogênio fixado do ar pelo rizóbio para a parte aérea, na forma de ureídeos (Alantoína e ácido alantóico). Estes compostos são sintetizados a partir do ácido úrico, que é um produto da oxidação da purina (Mendel e Schwarz, 1999). Além disso, esta enzima também está envolvida na resistência de plantas a patógenos, pois a produção de radicais superóxidos pode inibir a ação de fungos como *Uromyces* em leguminosas (Montalbini, 1992a) e *Puccinia* em cereais (Motalbini, 1992b).

O Mo participa em todas as enzimas no cofator de oxido-redução, sendo que o seu fornecimento condicionará a atividade das mesmas. Diversas enzimas envolvidas em todo o metabolismo tanto vegetativo quanto reprodutivo das plantas são dependentes de Mo, outras participam de processos tais como resistência a estresse hídrico (Vunkova-Radeva et al., 1988), no desenvolvimento do efeito rizosfera das plantas, pelo estímulo da produção de aminoácidos livres, ácidos orgânicos exudados pelo sistema

radicular das plantas estimulando a proliferação de microrganismos promotores de crescimento (Dey e Ghosh, 1986a e 1986b).

As enzimas citadas acima se apresentam nas plantas e microrganismos em quantidades muito reduzidas quando comparadas com a RN e NA, sendo que o nível de Mo exigido na nutrição das plantas para que a atividade destas enzimas não limite a produtividade das plantas cultivadas, pode ser bem menor que o exigido pelas duas enzimas, mas é importante que se considere que em condições de baixa disponibilidade de Mo, uma ou mais enzimas descritas acima podem limitar a produtividade. Por isso, diversos trabalhos científicos têm dado elevada atenção à atividade destas enzimas na avaliação da produtividade de plantas cultivadas, como Agarwala et al. (1986), Chatterjee, et al. (1985) Agarwalla, et al. (1988), em cana de açúcar e outras culturas. Possivelmente, a avaliação destas enzimas auxiliará no entendimento mais detalhado da nutrição molíbdica nas plantas cultivadas, possibilitando o dimensionamento adequado da importância deste micronutriente na produtividade agrícola.

2.3.2 TÉCNICAS DE DETERMINAÇÃO DE MO EM TECIDOS VEGETAIS E EM SOLOS

Os estudos que objetivam estabelecer procedimentos analíticos para determinação de Mo no sistema solo/planta, principalmente na agricultura, foram iniciados nas décadas de 30 e 40 desde as primeiras descobertas da importância do Mo para a produtividade destes sistemas biológicos (Arnon e Stout, 1939; Bortles, 1936, Mulder, 1948). No entanto, a baixa concentração do Mo na natureza faz com que as técnicas tradicionais adotadas na pesquisa para determinação deste micronutriente ainda sejam os principais fatores que prejudicam o desenvolvimento de práticas de manejo da nutrição molíbdica em sistemas agrícolas. Em culturas agrícolas como a cana-de-açúcar, a faixa crítica de insuficiência de Mo nas plantas e no solo podem estar abaixo de 0,1 mg/kg.

A escolha do método de análise de um elemento deve basear-se na possibilidade de instrumentação, reprodutibilidade, sensibilidade de detecção e especificidade, além da facilidade de execução do procedimento analítico (Alvarez V., 1988). Em plantas, diversos procedimentos analíticos são propostos para a determinação de Mo, sendo inicialmente os mais utilizados as técnicas de determinação espectrofotométrica

conhecidas como “Tiocinato” - $[\text{FeMoO}(\text{SCN})_5]$ – proposto por Evans et al. (1965), “Ditiol-Mo” como descrito por Gupta e MacKey (1965). Entretanto, estas duas técnicas envolvem em seu procedimento o uso de extratores solventes orgânicos e elevada manipulação das amostras, tornando tanto a precisão quanto a exatidão de ambos os métodos inconsistentes quando a concentração de crítica de Mo nas plantas é abaixo de 0,1 mg/kg.

Alternativamente a estes métodos, Yatsmirskii (1964) propôs uma técnica cujo procedimento utiliza-se da determinação cinética do Mo com base na sua ação catalítica na reação entre iodeto de potássio (KI) com o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), em meio ácido. Esta técnica é utilizada por diversos autores para a determinação de Mo, tanto em extratos de plantas quanto de solo, e, ao menos para plantas, não apresenta as desvantagens das técnicas citadas anteriormente, no que diz respeito ao limite mínimo de detecção e à manipulação das amostras analisadas (Eivazi e Sims, 1997).

O desenvolvimento de instrumentos como o forno de grafite acoplado ao espectrômetro de absorção atômica (GF-AAS) (Butler e Mathews, 1996) dos aparelhos de detecção plasma direto (DCP-MEAS) (Havlim e Soltanpour, 1980) ou induzido (ICP-AES) (Pierzinsky et al., 1986) são promissores para o desenvolvimento de procedimentos analíticos para a detecção de Mo, pois a detecção é relativamente rápida, multielementar (ICP-AES), podendo, no entanto, serem sujeitos a forte influência da matriz iônica no extrato da amostra analisada.

Estas técnicas de detecção de Mo também são adotadas para a análise de solos, no entanto, adiciona-se a problemática de escolha de um extrator que possa extrair para a solução quantidades de Mo que se relacionam com a disponibilidade para as plantas. Teoricamente, a melhor maneira de se estimar a disponibilidade de um nutriente no solo seria a utilização de extratores que extraíam quantidades relativas ao que é utilizando pelo organismo (planta ou microrganismos do solo), e, nesse foco, o melhor extrato seria o próprio organismo. Entretanto, a pesquisa busca maciçamente a escolha de substâncias químicas que simulem, ou “imitem”, a ação extratora dos organismos no solo, para que se possa prever a disponibilidade de um nutriente no solo através de análises químicas em laboratório. No entanto, o uso de extratores químicos implica na diluição do teor do nutriente na solução que será determinado, que, especialmente para o Mo, inviabiliza a sua detecção em solos com limitações deste micronutriente.

Avaliações da disponibilidade de micronutrientes no solo com uso de extratores químicos podem levar a insucessos pela baixa concentração do micronutriente na solução analisada, levando a resultados imprecisos e à baixa reprodutibilidade da técnica (Mordvet, 1991).

O uso de extratores biológicos (bio-indicadores) pode ser adequado para o Mo, uma vez que este elemento realiza funções altamente específicas dentro do metabolismo celular, sendo, portanto, extraído de forma específica pelo organismo. Franco et al., (1979) comprovaram a possibilidade de utilização de bactérias diazotróficas de vida livre, tais como *Azotobacter paspali*, *A. chroococcum*, *Azospirillum*, como bio-indicadores indiretamente da disponibilidade de Mo no solo.

2.3.3 O MOLIBDÊNIO NO SOLO

2.3.3.1 OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO DO Mo NO MATERIAL DE ORIGEM DOS SOLOS

O Mo é um dos mais raros elementos químicos da superfície da terra que participam de processos biológicos (Krauskopf, 1972). Apresenta abundância na crosta terrestre de aproximadamente 1,2 mg/kg (Fortescue, 1992), podendo variar entre <0,1 e 40,0 mg.Kg⁻¹ (Kubota, 1972, Catani, et al., 1970).

A distribuição e a ocorrência do Mo nos solos utilizados em sistemas agrícolas está primariamente associada aos mecanismos de consolidação dos minerais que compõem as rochas, e da composição dos sedimentos que atuam como material de origem dos solos em todo o mundo (Mitchell, 1964). Dentre os minerais que apresentam Mo em sua constituição, a molibdenita (MoS₂) é o mineral primário mais ocorrente na natureza (Palache, et al., 1944). A molibdenita ocorre como um mineral acessório de certos tipos de rochas ígneas do tipo granitos, pegmatitos e aplitos, e outras rochas magmáticas ácidas, ou nas rochas derivadas do metamorfismo destes materiais, podendo nesta formação se apresentar em elevadas concentrações em algumas partes da superfície terrestre (King, 1973)².

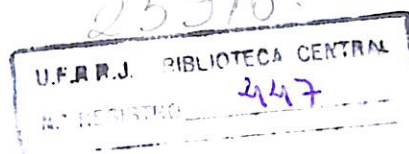
² A molibdenita, juntamente com o mineral secundário vulfenita (PbMoO₄), que é encontrado abundantemente em regiões de mineração de chumbo (Pb) (Palache et al., 1951), ocorre como minério em alguns países como Noruega, Suécia, Inglaterra, China, México, Canadá, Rússia, Chile e Estados Unidos

O Mo é também encontrado em minerais secundários derivados da molibdenita como ferromolibdenita, $[\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)]$, pouelita (CaMoO_4), ilsemanita (MoO_8), lindgrenita $[\text{Cu}_3(\text{MoO}_4) \cdot (\text{H}_2\text{O})]$ Jarosita $[\text{KFe}(\text{SO}_4)_2 \cdot (\text{Mo})_6]$, os quais ocorrem em rochas metamórficas e sedimentares (Kaback, 1977). Em relação às rochas sedimentares, uma fonte importante de Mo em sua composição é a matéria orgânica, dada a grande afinidade do MoO_4^- pelas frações mais solúveis da matéria orgânica, tais como ácidos fúlvicos e ácidos húmicos (Krauskopf, 1972).

O quadro 02 mostra o teor de Mo encontrado em algumas das principais rochas e materiais de origem dos solos. Embora as quantidades sejam reduzidas em todas os materiais, relativa aos outros nutrientes minerais, há a contrapartida de este nutriente ser requerido em quantidades muito reduzidas nos processos biológicos (0,1 a 2,0 mg/kg) (Gupta e Lipset, 1981), fazendo com que seja importante diferença das concentrações do Mo nas diferentes rochas e sedimentos, caracterizando-as como materiais de origem de diferentes riquezas na formação dos solos. De uma maneira geral, a concentração de Mo disponível adequada para as culturas agrícolas em diversas regiões do mundo, é em torno de 10 a 100 vezes menores que as apresentadas pelos materiais de origem referidos no quadro 02 (Lombin, 1983, Karimian e Cox, 1979, Catani et al., 1971, Burmester, et al., 1988). No entanto, raros são os solos que apresentam disponibilidade adequada de Mo para as culturas agrícolas (Gupta, 1997), uma vez que é vasto o número de estudos que relatam resposta positiva de diversas culturas à aplicação de Mo (ver Bauer, 1956, Gupta e Lipset, 1981, Gupta, 1997).

Avaliações da disponibilidade de Mo em diversas classes de solos em regiões de clima tropical (Bataglia, et al., 1971) ou temperado (Massey, et al., 1967) demonstraram que a influência do material de origem na disponibilidade de Mo varia em função dos processos de formação das diferentes classes de solo. Assim, faz-se necessário o conhecimento da associação das características do Mo com os processos de formação dos solos, intemperismo e pedogênese, para que se possa apresentar modelos de alta capacidade preditiva sobre solos que apresentem limitações na disponibilidade de Mo para os processos biológicos (Kabata-Pendias e Pendias, 1984; Sims e Eivasi, 1997).

(Smith, 1997). Aproximadamente 90% do Mo utilizado na indústria e na agricultura, como fertilizante, em todo o mundo são extraídos e distribuídos destas regiões, principalmente do Estado do Colorado, nos Estados Unidos (Blosson, 1994). Nas demais regiões da superfície da terra os minerais que apresentam Mo em sua estrutura bem como materiais sedimentares ligados a este elemento, ocorrem em quantidades muito baixas (traços).



Quadro 02 - Teores de Mo encontrados nas principais rochas (baseado em valores médios de encontrados em diferentes fontes bibliográficas) Adaptadas de Kabata-Pendias e Pendias (1984).

Tipo de Rocha	Mo total
	mg/kg
Rochas Magmáticas	
Ultramáficas (dunitos, perioditos, piroxenitos)	0,2-0,3
Máficas (Basaltos, gabros)	1,0 – 1,5
Intermediárias (Dioritos, sienitos)	0,6 – 1,0
Ácidas (Granitos, gnaisses)	1,0 2,0
Ácidas vulcânicas (Riolitos, trakitos, dacitos)	2,0
Rochas Sedimentares	
Argilitos	2,0 a 2,6
Arenitos	0,2 – 0,8
Calcário, Dolomitas	0,16 – 0,4
“Shales”	0,7 – 2,6

2.3.3.2 O Mo NO PROCESSO DE FORMAÇÃO DE SOLOS

Os fatores mais importantes na concentração de um elemento químico no processo de formação de solos são a estabilidade e quantidade dos minerais primários e secundários, a mobilidade do elemento (que está relacionado às características químicas do elemento), o caráter óxido-redutivos dos processos de intemperismo e pedogênese (Kabata-Pendias e Pendias, 1979; Kabata-Pendias e Pendias, 1984 op. cit., Lang. e kaupenjohann, 2000).

No processo de intemperismo, o principal mineral primário que contém Mo (Molibdenita) apresenta-se pouco estável na condição de elevada tensão de oxigênio, sendo solubilizada (oxidação) principalmente pela afinidade do Mo por este elemento, formando, inicialmente, H_2MoO_4 , que permanecerá no regolito (rocha podre) na forma de MoO_4^- (Bolland e Backer, 2000). Esta característica o diferencia dos outros elementos considerados micronutrientes, que permanecem no solo na forma catiônica. A solubilização dos outros minerais apresenta-se de maneira semelhante à molibdenita,

sendo que os minerais primários liberam MoO_4^- diretamente em solução. Esta característica química faz com que a cinética do Mo neste processo seja bastante diferenciada destes outros micronutrientes.

Neste estado de oxidação, o Mo apresenta o mais elevado potencial iônico (carga do íon/raio iônico) dentre os micronutrientes, que o confere a afinidade por moléculas de óxidos e hidróxidos, formando complexos de baixa mobilidade. Esta complexação e, conseqüentemente, a mobilidade do Mo está condicionada às condições ambientais que ocorre o intemperismo do material de origem, variando desde elevada em condições neutras ou alcalinas, a médias, em condições de acidez e oxidação, e muito lentas em ambientes redutivos. Aliados a estes fatores de intemperismo, o processo de pedogênese que leva a formação de uma classe de solo, pode ser utilizado como preditivo da conservação ou não do Mo no perfil do mesmo.

De uma maneira geral, os processos de formação dos solos utilizados para sistemas agrícolas são compostos por mecanismos que ocorrem em condições de oxidação levando a liberação de prótons no ambiente. Estes processos levam, à conservação de elementos que se apresentam na forma de ânions (PO_4^{3-} , SO_4^- , MoO_4^- entre outros) e a perda daqueles que se apresentam como cátions (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , Zn^{2+} , Cu^{2+} , etc).

O quadro 03 apresenta o teor de Mo total e o disponível em diferentes classes de solos ocorrentes no Brasil - Estados de São Paulo (Bataglia et al, 1971) e Minas Gerais (Dallpai, 1996, Fontes, et al., 2000), e nos Estados Unidos - Estado de Kentucky (Massey et al., 1967). O teor de Mo total observado nas classes de solo do Estado de São Paulo é diretamente influenciado pelo teor de Mo no material de origem. Nas áreas cujo material de origem foi proveniente de rochas ígneas básicas e sedimentos modernos (material rico em minerais pouco transformados), os quais apresentam teores elevados de Mo e argilito (pobre em Mo), observaram-se os maiores e menores teores de Mo-total, respectivamente. Inclusive, os teores de Mo total observados nos solos foram semelhantes aos ocorrentes nos materiais de origem, indicando o caráter conservativo do comportamento do Mo nos processos de formação dos solos estudados.

Os teores de Mo-disponível nos solos (Mo-disp.) também sofrem elevada influência do material de origem. No entanto, a sua magnitude sofre influência das distinções entre propriedades e características nas diferentes classes de solo, mesmo

formadas pelo mesmo material de origem. Exemplificando, no Estado de São Paulo, a classe terra roxa estruturada, apesar de apresentar a metade do teor de Mo-total do latossolo roxo, apresentou quase o dobro de Mo-disponível. O mesmo foi observado na área de solos formados com sedimentos modernos no material de origem, onde solos pertencentes ao mesmo grande grupo (Latosolos) diferindo apenas nos teores de Argila (Valadares, 1972). Estas diferenças são de suma importância para a predição de áreas com solos que apresentem potencial de limitação no fornecimento de Mo nos solos para as culturas agrícolas, uma vez que a fração considerada disponível, diz respeito à quantidade de Mo no solo acessível para a utilização das plantas.

Neste ponto, a quantificação do teor de Mo disponível no solo deverá ser feita utilizando-se um extrator que acesse quantidades mais exatas do Mo-disponível para as plantas. Devido principalmente às baixas frações deste micronutriente no solo e diferenças nas características químicas dos extratores, ainda não há consenso no uso de um extrator ideal para Mo no solo, pois todas as técnicas apresentadas até o momento na literatura não se adequam às pressuposições do método de avaliação da fertilidade do solo ou apresentam-se extremamente laboriosas e de difícil adaptação aos laboratórios que realizam análises rotineiramente (Sims e Eivasi, 1997).

Quadro 03: Teores de Molibdênio totais e disponíveis em classes de solos influenciados pelo material de origem

Material de Origem	Classe de Solo	Mo -Total*	Mo - disp.* (mg/kg)
<i>São Paulo</i> ¹			
Rochas Básicas	Litossolo	1,45	0,10
	Terra Roxa Estruturada	1,63	0,13
	Latossolo Roxo Eutrófico	3,02	0,08
	Latossolo Roxo Distrófico	0,45	0,09
Material Aluviais e Coluviais	Hidromórfico	0,72	0,09
Sedimentos Modernos	Latossolo Vermelho Escuro	2,38	0,12
	Latossolo Vermelho Amarelo	2,10	0,05
Arenito de Bauru	Podzolizados	0,24	0,03
Sedim. Modernos Arenosos	Latossolo Vermelho Escuro f. arenosa	0,52	0,05
	Regossolo	0,13	0,01
<i>Estados Unidos – Kentucky</i> ²			
Arenitos	Argissolo Amarelo	Nd	0,10
Calcário	Argissolo Amarelo	Nd	0,06
Black fissile Shale	Argissolo Amarelo	Nd	4,5
<i>Minas Gerais</i> ³			
Gnasse-Granítico	Latossolo Vermelho	Nd	0,116
	Latossolo Vermelho	Nd	0,104
Sedimentos Arenosos	Areia quartzosa	Nd	0,052

1 – Mo – total : Ataque Nítrico-Fluorídrico (Valadares, 1972); Mo-Disp.: Extração com Oxalato de Amônio pH 3,3 (Grigg, 1953).

2 – Mo –disp.: Extração com Oxalato de Amônio pH 3,3 (Grigg, 1953)

3 – Extração com Resina (Dallpai, 1997, Fontes et al., 2000)

2.3.3.3 INFLUÊNCIA DAS PROPRIEDADES E CARACTERÍSTICAS DO SOLO NA DISPONIBILIDADE DE Mo

O Mo, apesar de ser um elemento metálico, ocorre disponível no solo na forma de molibdatos (XMoO_4), apresentando, de uma maneira geral, mecanismos de especiação, precipitação e dissolução, e cinética semelhante aos outros nutrientes oxianiónicos no solo (XPO_4 , XSO_4) (Lindsay, 1972, Sims e Eivazi, 1997). Atualmente, aceita-se que o Mo disponível no solo pode incluir a fração de Mo em solução, as frações lábil (adsorção não específica) e não lábil (adsorção específica) adsorvidas ao complexo de troca da superfície inorgânica da fração argila (principalmente sesquióxidos de Fe de Al cristalinos e amorfos), quelado pela matéria orgânica do solo; e em equilíbrio com a fração salina inorgânica solúvel (especiação) (Reisenauer, et al., 1972; Pendias-Kubota e Kubota, 1984; Adriano, 1986; Reddy et al., 1997).

2.3.3.3.1 QUALIDADE E QUANTIDADE DE MINERAIS DA FRAÇÃO ARGILA E REAÇÃO DO SOLO

Em solos minerais, os fenômenos de adsorção pelas cargas positivas do solo são os mais influentes na disponibilidade de nutrientes minerais aniônicos como o molibdato, que atendem as pressuposições para se adequar ao modelo de isoterma de Langmuir em algumas classes de solos e Freudhlich em outras (Lindsay, 1979; Reys e Jurinak, 1967). O íon molibdato adsorvido nas moléculas recentemente precipitadas de $\text{Fe}(\text{OH})_3$ e Fe_2O_3 (Korimian e Cox, 1978) ainda permaneceria trocável, mas com a ação do tempo, o Mo estaria na forma de ferromolibdenita ($\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$), insolúvel no solo a pH acima de 4,0 (Lindsay, 1972). Os teores de compostos amorfos de alumínio também apresentam alta afinidade pelo Mo na solução do solo, podendo precipitar no meio, retirando o Mo da solução (Barrow, 1970). Os precipitados de Ferro-Molibdatos e Alumínio-Molibdato apresentariam solubilidade mínima a pH 2,7 e 4,8, respectivamente (Davies, 1956).

Krauskopf (1972) Norrish (1975) e Lindsay (1972) concluíram que, na fase inorgânica, o Mo está associado principalmente a óxidos de Fe, na superfície de adsorção. As reações de adsorção não específica e específica do Mo ocorrem efetivamente na fração argila, nas arestas quebradas dos óxidos e hidróxidos cristalinos

onde grupos Al-OH e Fe-OH encontram-se expostos nos minerais Hematita (Óxidos de Ferro), Goetita (Hidróxido de Ferro) e Gibsita (Hidróxidos de Alumínio). Os tipos de carga (+ ou -) que estes minerais apresentam no solo são dependentes do pH do solo, ou seja, maior será a adsorção de Mo no solo quanto menor for o valor de pH. A magnitude do processo de adsorção pode ser referenciada considerando-se o ponto de carga zero (PCZ) de cada classe de solo, sendo quanto mais afastado deste ponto se encontrar o pH do solo (valores menores que o PCZ), maior será adsorção de molibdato no solo (Parks, 1965).

De uma maneira geral, a diminuição do valor de pH em uma unidade pode reduzir a disponibilidade de Mo em até 100 vezes, condicionado ao teor de minerais de argila do solo e da fração destes minerais que apresenta cargas dependentes de pH (Pendias Kabata-Kabata, 1984). Em solos cuja fração argila é composta predominantemente por estes minerais estudados no Brasil por Catani et al. (1970) e Dalpiai, (1997) Fontes et al. (2000), a elevação do pH diminuiu expressivamente a adsorção do molibdato. Siqueira e Veloso (1974) verificaram em solos argilosos do cerrado brasileiro a máxima adsorção de molibdato ocorreu a pH quatro, e a elevação do pH para valores acima de cinco ocasionou queda brusca desta adsorção, aumentando a disponibilidade deste nutriente no solo. Estes trabalhos também evidenciaram que o extrator utilizado para a determinação do Mo-disponível no solo influenciou marcadamente os teores extraídos, e variaram em função das características e propriedades das diferentes classes de solo.

De uma maneira esperada, diversos trabalhos evidenciaram a necessidade da elevação do pH em solos ácidos de diversas regiões do mundo, efetivamente no Brasil, para aumentar a disponibilidade de Mo no solo para as plantas, e, em alguns casos, corrigindo as deficiências deste micronutriente (Franco e Day, 1981; Franco e Munns, 1982; Vieira et al, 1998a; Vieira et al., 1998b; Mandal et al., 1998; Bailey e Laidlaw, 1999). Entretanto, em solos originários de material de origem pobre em Mo (baixo teor de Mo-total), e com baixa capacidade tampão de ânions (Quadro 02), mesmo a elevação do pH do solo pode não aumentar a disponibilidade de Mo a níveis adequados para as culturas agrônômicas.

2.3.3.3.2 INTERAÇÕES DO Mo COM OUTROS NUTRIENTES MINERAIS NO SOLO E NAS PLANTAS

Os mecanismos de adsorção do íon molibdato são semelhantes aos ocorrentes com os íons fosfatos no solo, no entanto, os sítios de adsorção específica destes poliânions no solo são estereoquimicamente menos perfeitos para o molibdato que para o fosfato, fazendo com que ocorra formação de apenas duas ligações covalentes entre as hidroxilas com o molibdato ao invés das três que ocorrem com o íon fosfato (Mengel e Kirkby, 1982). O nível de fosfato correlaciona-se positivamente com o do molibdato na solução do solo, uma vez que o fosfato desloca o molibdato da superfície de adsorção para a solução do solo (Stout et al. 1951; Menguel e Kirkby, 1982). Em consequência, a disponibilidade de Mo no solo é bastante afetada pelo nível de P no solo (Stout et al. 1951). Em áreas onde doses suficientes P foram aplicadas, algumas culturas não apresentaram resposta à aplicação de Mo (Anderson e McLachlan, 1951; McLachlan, 1955 citados por Anderson, 1956).

O nível de sulfato no solo afeta negativamente a absorção de Mo por diversas culturas, mas depende do nível de Mo disponível no solo (Sims, et al., 1979; Barber, 1984). Apenas em condições em que a disponibilidade de Mo é limitada, este efeito ocorre com o sulfato agindo com intensificador da deficiência de Mo. No solo, o molibdato é preferencialmente adsorvido em relação ao sulfato, mas este fenômeno ainda não é relacionado com a disponibilidade destes nutrientes para a planta.

2.3.3.3.3 INFLUÊNCIA DA MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO NA DISPONIBILIDADE DE Mo NO SOLO

A interação do Mo com a matéria orgânica do solo (MOS) ainda é pouco conhecida. Admite-se que os processos que atuam nas reações do Mo com a MOS afetando a disponibilidade deste micronutriente no solo sejam bastante semelhantes aos descritos para o íon fosfato, dada a semelhança na forma química destes dois nutrientes no solo (Gupta, 1997). De uma maneira geral, a acumulação de Mo em solos considerados ricos em matéria orgânica é observada (Kubota et al., 1961, Willians e Thornton, 1973). A MOS é capaz de remover o Mo da solução do solo e afetar a disponibilidade deste micronutriente para as plantas (Davies, 1956). Alguns autores

afirmam que o Mo pode se apresentar intimamente ligado à MOS (Aubert e Pinta, 1977). Este fenômeno pode ser explicado pela formação de pontes metálicas, formadas por Fe e Al, com as cargas negativas da MOS. Este fenômeno faz com que o Mo nesta fração esteja na forma lábil, e que seria bastante positivo, pois em solos ácidos este ânion freqüentemente sofre precipitação com íons metálicos como Fe^{3+} e Al^{3+} , Pb^{2+} , entre outros, solúveis no solo, em faixas de pH abaixo de 5,0 (Sinha, 1971). Inclusive este fenômeno explicaria a ocorrência de plantas com elevados teores de Mo em seus tecidos mesmo cultivadas em solos ácidos, as com elevados teores de MOS.

2.3.4 DISPONIBILIDADE DE Mo NO SOLO PARA PLANTAS E MICRORGANISMOS

A utilização de um nutriente por um organismo está primariamente relacionada à capacidade do ambiente em cedê-lo na forma e quantidades proporcionais ao requerimento biológico e o tempo. Especialmente no ambiente do solo, procura-se métodos analíticos ou técnicas para estimar a disponibilidade de um determinado nutriente para o organismo alvo que apresentem limites de variabilidade aceitáveis (precisão) com alta sensibilidade, capacidade de estimar valores próximos da realidade (exatidão) e serem altamente reprodutíveis (Álvares V., et al., 1988). Teoricamente, a melhor maneira de se estimar a disponibilidade de um nutriente no solo seria a utilização de extratores que extraíam quantidades relativas ao que é utilizado pelo organismo (planta ou microrganismos do solo), e, nesse foco, o melhor extrato seria o próprio organismo. A pesquisa busca maciçamente a escolha de substâncias químicas que simulem, ou “imitem”, a ação extratora dos organismos no solo, para que se possa prever a disponibilidade de um nutriente no solo através de análises químicas em laboratório. No entanto, o uso de extratores químicos implica na diluição do teor do nutriente na solução que será determinado. Avaliações da disponibilidade de micronutrientes no solo com uso de extratores químicos podem levar a insucessos pela baixa concentração do micronutriente na solução analisada, levando a resultados imprecisos e à baixa reprodutibilidade da técnica (Mordvet, 1991).

A baixa concentração de Mo disponível na maioria dos solos utilizados para fins agrícolas (0,1 a 3,0 mg/kg) (Kubota, 1976), variações nas características que atuam na disponibilidade de Mo dos diferentes solos e a complexidade das técnicas de análise utilizadas na detecção e determinação deste micronutriente no solo, impediram a

padronização de procedimentos analíticos seguros para a realização de inferências sobre fertilidade do solo relativa a este micronutriente (Gupta e Lipset, 1981, Sims e Eivazi, 1997). Estes fatores por muito tempo impediram o conhecimento dos reservatórios (“pools”) que influenciam a disponibilidade de Mo nas diferentes classes de solos utilizados para fins agrícolas (Viets, 1962).

As técnicas que utilizam extratores químicos para a estimativa das concentrações de Mo disponível no solo para as plantas apresentam, normalmente, baixo poder em detectar concentrações abaixo da faixa crítica no solo (0,1 a 1,0 mg/kg de Mo) (Sims e Eivazi, 1997). Além disso, o extrator químico utilizado deve ser sensível às variações nas concentrações de Mo no solo ocorrentes pela modificação de algumas características do solo. A pesquisa científica demonstrou solidamente que a elevação do pH do solo ocasiona um aumento da disponibilidade de Mo no solo, principalmente em solos cujos minerais da fração argila sejam compostos por óxidos, hidróxidos e oxihidróxidos de Ferro e Alumínio. É considerada crítica a escolha de um extrator que seja sensível à detecção de baixas concentrações de Mo-disponível uma vez que as características dos solos brasileiros são de elevada acidez e baixo pH, minerais na fração argila com cargas dependentes de pH e elevado PCZ, e baixo teor de matéria orgânica, condições de elevada adsorção e baixa disponibilidade de ânions no solo (elevada capacidade de troca aniônica, CTA).

2.3.4.1 USO DE EXTRATORES QUÍMICOS PARA A DETERMINAÇÃO DA DISPONIBILIDADE DE Mo NO SOLO

O fundamental dilema encontrado quando se procura desenvolver soluções extratoras para nutrientes, é a necessidade de satisfazer um critério que possa ser aceito por todos (Bray, 1948). Para ele uma solução ideal deve: extrair tudo ou uma parte proporcional das formas disponíveis do nutriente para a planta, ou diferentes formas do nutriente em solos com diferentes propriedades; que seja rápido, exato e, correlacione-se com respostas das culturas à aplicação de um nutriente sob várias condições. Alvarez V. (1988), considera estas questões de fundamental importância, observando, porém, que estes objetivos não podem ser atingidos de maneira simples, devido à complexidade dos processos envolvidos na dinâmica dos nutrientes no sistema solo-solução-planta. Para Alvarez V. (1988), a disponibilidade de um nutriente no solo, pode ser definida de diferentes maneiras: realisticamente como sendo a quantidade do nutriente que pode ser

absorvida pelas culturas durante seu ciclo vegetativo. Conceitualmente como sendo a resultante da ação integrada dos fatores intensidade (I), quantidade (Q) e capacidade tampão (CT). Operacionalmente como sendo a quantidade de nutriente recuperado do solo por métodos de extração que se correlaciona estreitamente com o conteúdo de nutriente na planta.

Diversos extratores químicos são utilizados para a estimativa da disponibilidade de Mo no solo (Quadro 03). No entanto, na maioria dos métodos estudados, o teor de Mo extraído do solo não apresentou correlação com o conteúdo acumulado pela planta cultivada, na fase de calibração do método (Dalpiai, 1996, Sims e Eivasi, 1997). Segundo Dalpiai (1996) as soluções de oxalato de amônio, pH 3,3, e o extrator proposto por Olsen (quadro 03) não se adequaram como extratores para o Mo-disp., pois as quantidades extraídas não se apresentaram detectáveis. Os outros extratores como resina de troca aniônica, Mehlich 1, Bray - 2, HCl 0,125 M e HCl 2,0 M, extraíram quantidades detectáveis de Mo, no entanto, as quantidades extraídas de Mo por cada extrator variaram extremamente em uma mesma classe de solo. Os maiores teores de Mo extraído ocorreram com os extratores Mehlich 1 e HCl 2,0 M, o que pode ser atribuído à composição e maior concentração ácida dos extratores, podendo extrair formas não lábeis de molibdênio. Os teores de Mo extraídos do solo não se correlacionaram com os valores de pH do solo em todos os extratores. Possivelmente, esta característica invalida o uso destes extratores para a estimativa exata do teor de Mo-disponível no solo.

Grigg (1963) testando o oxalato de amônio a pH 3,3 como extrator de Mo-disponível no solo concluiu que o método foi inadequado para a diagnose de solos com baixa disponibilidade deste micronutriente, pois extrai quantidades de Mo ligadas a ferro e alumínio que não estão disponíveis para as plantas. O autor ainda conclui que a classe de solo foi o melhor indicador da disponibilidade de Mo no solo comparado com extratores químicos. Outros autores utilizaram o oxalato de amônio como extrator, e apesar de encontrarem correlação significativa com o conteúdo na planta teste, observaram elevada influência da matéria orgânica do solo (Lombin, 1985). Outros estudos testando o mesmo extrator concluíram que a predição do teor de Mo-disponível no solo foi adequada, no entanto, ao modelo matemático deveria-se acrescentar características como pH (Lowe e Massey, 1965; Pathak, 1969; Mortved e

Anderson, 1982; Cox, 1987), teor de matéria orgânica do solo (Lombin, 1985; Karimean e Cox, 1978), e propriedades com o teor de argila (Karimian e Cox, 1979).

O uso de água quente mostrou-se adequado como extrator de Mo-disponívelno solo. No entanto, houve sucesso na extração de Mo quando a concentração no solo foi elevada (Bashad, 1951; Kubota et al., 1963). Em solos com baixa disponibilidade de Mo este extrator não seria adequado, pois a quantidade extraída não seria detectada pelos métodos utilizados para determinação de Mo (Gupta e Mackay, 1965). Uma alternativa seria a concentração do Mo extraído com substâncias químicas quelantes para elevar a possibilidade de utilização deste extrator em solos pobres em Mo, como utilizado por Zbiral (1992). No entanto, os métodos colorimétricos não poderiam ser aplicados para a detecção do Mo, sendo necessário o uso de métodos de espectrometria como a absorção atômica com forno de grafite (FG-SAA) ou plasma (ICP) (Eivazi e Sims, 1997). Mesmo desta maneira, as influências do teor de Fe solúveis no solo e da matéria orgânicas deveriam ser incluídas na predição do teor de Mo-disponível. Este extrator pode ser adequado para detecção de Mo em áreas com concentrações de Mo em níveis tóxicos para plantas.

Resina de troca aniônica pode ser considerada como o extrator mais adequado para Mo-disponívelno solo. Principalmente por ser sensível às variações da disponibilidade de Mo pela modificação do pH do solo, aumentando a quantidade extraída com a elevação deste, numa faixa entre 5,0 e 7,0 enquanto que as quantidades extraídas por outros extratores como oxalato de amônio e Mehlich 1, permaneceram constantes (Bhella e Dawson, 1972; Dawson e Bhela, 1978; Jakson e Mglen, 1975; Jarrel e Dawson, 1978; Karimean e Cox, 1978; Ritchie, 1988; Sherrel, 1989). A limitação deste método seria análise em solos com pH abaixo de 5,0, ocorrentes em diversas regiões agrícolas do Brasil, onde as quantidades de Mo extraídas pela resina são muito baixas e não se correlacionam com o conteúdo acumulado por plantas, principalmente em condições de deficiência deste micronutriente (Sherrel, 1989).

2.3.4.2 EXTRATORES BIOLÓGICOS

O uso de extratores biológicos (bio-indicadores) pode ser adequado para o Mo, uma vez que este elemento realiza funções altamente específicas dentro do metabolismo celular, sendo, portanto, extraído de forma específica pelo organismo. Além disso, no

processo de extração há o aumento da concentração do Mo quando acumulado na biomassa do organismo, o que facilita a sua determinação pelos diferentes métodos descritos.

A primeira técnica utilizando bio-indicadores para estimar a disponibilidade de Mo no solo foi descrita por Mulder (1948) que utilizou o fungo filamentososo da espécie *Aspergillus niger* como extrator de Mo no solo. Esta técnica possibilitou a detecção de concentrações de Mo-disponíveis em nanograma por kilograma (Nicholas e Fieldin, 1951 e Thornton, 1951). Agarawalla, et al. (1986) descreveram adaptações desta técnica que possibilitaram a ampla utilização desta técnica não só para a detecção de Mo em extrator de solo, mas também de plantas. A produção de massa micelial pelo *A. niger* após incubação em meio de cultura adicionado de solo ou de extrato mineralizado de plantas é calibrada com um padrão de referência (curva de calibração) que relaciona a concentração de Mo na solução e a massa de micélio produzida, sendo o limite mínimo de detecção da técnica estipulado em 2,0 µg/L de Mo em solução. Além disso, a técnica permite a definição visual de baixa disponibilidade de Mo pelo aspecto da cultura do microrganismo.

Franco et al., (1979) comprovaram a possibilidade de utilização de bactérias diazotróficas de vida livre, tais como *Azotobacter paspali*, *A. chroococcum*, *Azospirillum*, como bio-indicadores indiretamente da disponibilidade de Mo no solo. A técnica se baseia na medição da atividade da enzima nitrogenase como indicadora da disponibilidade de Mo no solo. Uma pequena quantidade de solo (100mg) é adicionada a meio de cultura em fonte nitrogenada e adicionado ou não de Mo, após incubação de 12 a 24 horas, estima-se a atividade da enzima através da técnica da redução do acetileno (Hardy et al., 1968). A bactéria cultivada em meio com amostra de solo com suficiente de Mo-disponível não apresentará elevação da atividade de redução de acetileno pela adição de Mo. No entanto, a técnica é sensível a detecção de solos com limitações no fornecimento de Mo. O conteúdo de Mo extraído por uma planta teste e o extraído por oxalato de amônio (Grigg, 1963) apresentaram correlação significativa ($r > + 0,7$) com o percentual de aumento da atividade da nitrogenase pela aplicação de Mo ao solo. Esta técnica apresenta limitações no caráter quantitativo dos resultados obtidos, pois não estima a concentração de Mo no solo diretamente. No entanto, a elevada sensibilidade na detecção de limitações na disponibilidade de Mo em amostras de solo

de forma bastante exata, aliada a rapidez, simplicidade e baixo custo, torna esta técnica potencialmente adequada.

3 **CAPÍTULO 1 - CONTRIBUIÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE
NITROGÊNIO (FBN) PARA A NUTRIÇÃO
NITROGENADA DAS PLANTAS NA CULTURA DA
CANA-DE-AÇÚCAR, ESTIMADA PELA TÉCNICA DA
ABUNDÂNCIA NATURAL DE ^{15}N**

3.1 INTRODUÇÃO

Os resultados obtidos em trabalhos de pesquisa com a cana-de-açúcar, que avaliam a contribuição processo de fixação biológica de N_2 (FBN) para a nutrição nitrogenada das plantas, realizado por bactérias diazotróficas associativas e endofíticas, demonstraram que este processo é responsável pela reposição natural de uma parte do N extraído pelas plantas em sua biomassa do solo. Estes estudos evidenciaram que, potencialmente, em condições controladas, este processo pode contribuir com até 60% do total do N acumulado pelas plantas em algumas das principais variedades comerciais do Brasil, o que significa em torno de 100 a 150 kg/ha de N fixado através da atividade diazotrófica destas bactérias, em cada ciclo desta cultura (Dobereiner et al., 1961; Lima et al., 1987; Urquiaga et al., 1992). Neste sentido, torna-se essencial que as técnicas empregadas para a quantificação deste processo apresentem exatidão e precisão adequadas, para que este processo seja melhor explorado na cultura da cana-de-açúcar, inclusive em estudos de quantificação da contribuição FBN nesta cultura ao nível do campo.

A quantificação da FBN feita pelo uso da técnica isotópica de abundância natural do ^{15}N em sistemas naturais e agrícolas (Shearer, e Kohl., 1986) vem apresentando grande potencial para trabalhos ao nível do campo. Yoneyama *et al.* (1997) ao quantificar a contribuição da FBN na cultura da cana-de-açúcar em algumas regiões do Brasil, demonstrou a viabilidade do uso desta técnica. Entretanto, este estudo é considerado exploratório, sendo necessário aprofundamento das avaliações com estimativas estatísticas dos resultados, bem como o relacionamento destes resultados com as principais características do manejo desta cultura no País.

Neste sentido foi feito um levantamento, em âmbito nacional, com seguintes os objetivos:

- (1) avaliar a contribuição do processo de FBN, através do uso da técnica de $\delta^{15}\text{N}$, no fornecimento de N nas principais variedades de cana-de-açúcar, cultivadas atualmente em diferentes regiões do País;
- (2) Avaliar a influência da fertilidade do solo e nutrição mineral das plantas de cana-de-açúcar neste processo, com ênfase nos fatores que afetam a nutrição moliúbdica.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 ASPECTOS GERAIS

Este estudo foi realizado em lavouras comerciais de cana-de-açúcar situadas em usinas de açúcar e álcool, destilarias de álcool e propriedades de Produtores/Fornecedores nos Estados do Rio de Janeiro (10), Pernambuco (02), Minas Gerais (17) e São Paulo (19) (Tabela 01). As lavouras amostradas foram escolhidas em função do ciclo cultural e da idade das plantas, sendo que as plantas amostradas apresentavam nove e seis meses após germinação ou brotação, para lavoura cultivada em ciclo de 18 meses (cana-planta) e em lavouras de ciclo de 12 meses (cana-soca), respectivamente. Informações do manejo agrônomo de todas as lavouras amostradas, características edáficas e geológicas dos solos cultivados nestas áreas são apresentados nas tabelas 02 e 03.

O procedimento de amostragem foi idêntico em todas as lavouras amostradas, sendo que em cada lavoura amostrada encontrava-se uma única variedade de cana-de-açúcar plantada (Tabela 01), com o manejo da lavoura uniforme em toda a área. Cada lavoura foi estratificada em quatro parcelas distintas, compostas por dez linhas de cultivo, com 50 metros de comprimento, nas quais foram retiradas as amostras para as determinações analíticas, como se segue.

3.2.2 ESTIMATIVA DA CONTRIBUIÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE N_2 PARA A CANA-DE-AÇÚCAR

A técnica utilizada para a avaliação da contribuição da fixação biológica de N_2 para a nutrição nitrogenada da cultura da cana-de-açúcar foi a da abundância natural de

^{15}N , denominado Delta 15N ($\delta^{15}\text{N}$) (Shearer e Kohl, 1986; Yoneyama et al., 1997, Boddey et al., 2001), que determina a fração do conteúdo de N acumulado nas plantas derivado do processo de FBN através da expressão:

$$\%Nfda = \left(\frac{(\delta^{15}\text{N}_{\text{planta testemunha}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{planta teste}})}{(\delta^{15}\text{N}_{\text{planta testemunha}} - B)} \right) \times 100$$

Onde:

$\%Nfda$ – Fração do N acumulado pela planta derivado do processo de FBN

$\delta^{15}\text{N}$ da planta testemunha – Valor de $\delta^{15}\text{N}$ do N-disponível no solo assimilado por plantas que não recebem contribuição da FBN.

$\delta^{15}\text{N}$ da planta teste – Valor de $\delta^{15}\text{N}$ da planta de cana-de-açúcar.

B – Valor da discriminação isotópica de ^{15}N feita pelas plantas de cana-de-açúcar na distribuição do N derivado da FBN (Neste estudo, foi considerado igual a zero, como proposto por Boddey et al., 2001).

As plantas de cana-de-açúcar foram amostradas retirando-se a primeira folha completamente desenvolvida, denominada “folha +3” (Gallo, 1970), a qual representa o estado nutricional das plantas nesta cultura (Orlando Filho, 1983). Em cada parcela foram coletadas 30 folhas das quais amostrou-se apenas terço médio do limbo foliar sem a nervura central. Nas mesmas parcelas também foram amostradas as plantas de ocorrência natural na lavoura (“plantas invasoras”), para serem utilizadas como plantas testemunhas, como descrito na fórmula (3). Estas plantas foram identificadas taxonomicamente ao campo, ao nível de espécie, e o número de espécies amostradas variou em função da ocorrência das mesmas nas lavouras (Tabela 03).

As amostras vegetais foram lavadas em detergente neutro e enxaguadas em água deionizada, secadas em estufa com ventilação forçada, a 65°C , até peso constante. As amostras secas foram passadas em moinho tipo Willey, com peneira de 40 mesh, e posteriormente em moinho de rolagem até granulometria menor que 400 mesh (Smyth e Myuns, 1990).

As amostras moídas foram analisadas para a determinação do teor de N e da abundância natural de ^{15}N por espectrometria de massas num espectrômetro de massas (Finingan Matt – Delta Plus), acoplado a um analisador automático de carbono e de nitrogênio (Carlo Erba Modelo EA 1103) (Boddey et al., 2001). O valor da abundância natural de ^{15}N nas amostras foi calculado pela expressão abaixo:

$$^{15}\text{N} = \frac{(R_{\text{amostra}} - R_{\text{padrão}})}{(R_{\text{padrão}})} \times 1000\text{‰} \quad (1)$$

Onde:

$\delta^{15}\text{N}$ = variação por mil (‰) da abundância natural de ^{15}N da amostra em relação à amostra padrão (Abundância natural de $^{15}\text{N}_2$ no ar atmosférico)

R_{amostra} = Relação $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ da amostra

$R_{\text{padrão}}$ = Relação $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ da amostra referência (valor da abundância natural de ^{15}N do ar (0,3663% ^{15}N ; $\delta^{15}\text{N} = 0$ ‰ (zero) (Mariotti, 1983).

Os valores médios de $\delta^{15}\text{N}$ das plantas de cana-de-açúcar e das “plantas testemunhas” foram comparados pelo teste de “t-student” e somente as médias que apresentavam diferenças significativas entre si foram utilizadas para o cálculo da contribuição da FBN, quando o valor de $\delta^{15}\text{N}$ nas “plantas testemunhas” foi maior que o apresentado pelas plantas de cana-de-açúcar. Os casos contrários ao anterior foram considerados para avaliação da adequabilidade da espécie de planta como testemunha e avaliação da técnica de $\delta^{15}\text{N}$ para quantificação da FBN nesta cultura. Para isso, foram comparados os valores de $\delta^{15}\text{N}$ da cana-de-açúcar e das plantas testemunha individualmente, e posteriormente, foram contrastadas em grupo, onde se comparou o conjunto de médias das plantas testemunhas com o valor médio do $\delta^{15}\text{N}$ da cana-de-açúcar. Avaliou-se a contribuição da FBN para as plantas de cana-de-açúcar em 27 dentre as 48 lavouras amostradas neste estudo (Tabelas 01 e 02)

3.2.3 AVALIAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DO SOLO NAS LAVOURAS EM ESTUDO.

Amostras dos solos foram retiradas até 20 centímetros de profundidade, nas entrelinhas das plantas de cana-de-açúcar, em cada parcela, em cada lavoura amostrada. Estas amostras foram passadas por peneira com abertura de malha de dois milímetros, após serem secas ao ar. Avaliaram-se as características químicas e as propriedades físicas das amostras de terra segundo metodologias propostas por EMBRAPA (1997) (Tabelas 04 e 05).

As características e as propriedades dos solos foram utilizadas para a estimativa da significância e do nível de relacionamento com os valores de $\delta^{15}\text{N}$ observados nas plantas testemunhas e nas plantas de cana-de-açúcar, através da aplicação do teste das correlações lineares de Pearson e de análise de regressão linear simples.

Tabela 01 – Descrição das características agrônômicas das lavouras avaliadas nos Estados do Rio de Janeiro (10), Pernambuco (02), São Paulo (19) e Minas Gerais (17)

Lavoura/ Local	Variedade/Ciclo	Safra 98/99 (Mg/ha)
Rio de Janeiro		
* Lavoura 01- Estação Experimental "Dr. Leonel Miranda"/ UFRRJ – Campos dos Goytacazes	CB 45-3 Segundo Corte	80,0
* Lavoura 02- Estação Experimental "Dr. Leonel Miranda"/ UFRRJ – Campos dos Goytacazes	RB 72454 Segundo Corte	80,0
* Lavoura 03 – Fazenda Guandu/Usina Barcelos S.A. – Campos dos Goytacazes/RJ	RB 72454 Segundo Corte	56,0
Lavoura 04 - Fazenda São João – Usina Santa Cruz S/A – Campos dos Goytacazes /RJ	RB 72454 Primeiro Corte	90,0
Lavoura 05 -Fazenda Santa Cruz – Usina Santa Cruz S/A – Campos dos Goytacazes/RJ	RB 72454 Sétimo Corte	45,0
Lavoura 06 - Fazenda Santana – Usina Santa Cruz S/A – Campos dos Goytacazes/RJ	SP 701143 Primeiro Corte	90,0 (estimada)
Lavoura 07 - Fazenda Santana – Usina Santa Cruz S/A – Campos dos Goytacazes/RJ	SP 701143 Sétimo Corte	40,0
* Lavoura 08 - Fazenda Grande – Usina Santa Cruz S/A – Campos dos Goytacazes/RJ	SP 701143 Primeiro Corte	150,0 (estimada)
* Lavoura 09 - Fazenda Conteiro – Usina Santa Cruz S/A – Campos dos Goytacazes/RJ	RB 72454 Segundo Corte	65,0
Lavoura 10 - Fazenda Conteiro – Usina Santa Cruz S/A – Campos dos Goytacazes/RJ	SP 701143 Segundo Corte	65,0

Tabela 01 – Descrição das características agronômicas das lavouras avaliadas nos Estados do Rio de Janeiro (10), Pernambuco (02), São Paulo (19) e Minas Gerais (17), continuação

Lavoura/ Local	Variedade/Ciclo	Safra 98/99 (Mg/ha)
Pernambuco		
* <i>Lavoura 11</i> - Engenho Carnaúba-Usina Cruangi-Timbaúba/PE	RB 784764 Segundo Corte	100,0
* <i>Lavoura 12</i> - Engenho Carnaúba-Usina Cruangi-Timbaúba/PE	RB 83102 Segundo Corte	80,0
São Paulo		
<i>Lavoura 13</i> - Usina Iracema Cia. Industrial e Agrícola Ometto - Fazenda Santana de Cima - Sta. Gertrudes/SP	RB 806043 Terceiro Corte	101,0
<i>Lavoura 14</i> - Usina Iracema Cia. Industrial e Agrícola Ometto - Fazenda Santa Eulália - Sta. Gertrudes/SP	RB 806043 Quarto Corte	40,0
<i>Lavoura 15</i> - Usina Iracema Cia. Industrial e Agrícola Ometto - Fazenda Monte Alegre- Sta. Gertrudes/SP	RB 825336 Segundo Corte	75,0
<i>Lavoura 16</i> - Usina Iracema Cia. Industrial e Agrícola Ometto - Fazenda Santa Eulália - Sta. Gertrudes/SP	RB 806043 Quarto Corte	56,0
* <i>Lavoura 17</i> - Usina São José - Fazenda 56 (Grupo Zillo Lorenzetti)-Macatuba/SP	SP-801842 Terceiro Corte	82,1
* <i>Lavoura 18</i> - Usina São José - Fazenda 59 (Grupo Zillo Lorenzetti)-Macatuba/SP	RB-72454 Terceiro Corte	70,8

Tabela 01 – Descrição das características agronômicas das lavouras avaliadas nos Estados do Rio de Janeiro (10), Pernambuco (02), São Paulo (19) e Minas Gerais (17), continuação

Lavoura/ Local	Variedade/Ciclo	Safra 98/99 (Mg/ha)
* <i>Lavoura 19</i> - Usina São José - Fazenda 54 (Grupo Zillo Lorenzetti)-Macatuba/SP	RB-72454 Primeiro Corte	126,6
* <i>Lavoura 20</i> - Usina São José - Fazenda 51 (Grupo Zillo Lorenzetti)-Macatuba/SP	SP 801842 Primeiro Corte	140,0
* <i>Lavoura 21</i> - Usina Santa Cruz OP - Fazenda Bom Retiro Araraquara/SP	SP 70 1143 Quarta Soca	61,24
* <i>Lavoura 22</i> - Usina Santa Cruz OP - Fazenda Bom Retiro Araraquara/SP	RB 806043 Primeira Soca	120,0
* <i>Lavoura 23</i> - Usina Santa Cruz OP - Fazenda Bom Retiro Araraquara/SP	RB 72 454 Terceira Soca	61,00
* <i>Lavoura 24</i> - Usina Santa Cruz OP - Fazenda Barrinha Araraquara/SP	SP 813250 Primeiro Corte	72,91
* <i>Lavoura 25</i> - Usina Santa Cruz OP - Fazenda Luzia Araraquara/SP	RB 835089 Primeira Soca	37,03
* <i>Lavoura 26</i> - Usina Santa Cruz OP - Fazenda Serrito Araraquara/SP	SP 791011 Terceira Soca	61,24
* <i>Lavoura 27</i> - Usina Santa Cruz OP - Fazenda Serrito Araraquara/SP	RB 813250 Segundo Corte	61,24
* <i>Lavoura 28</i> - Usina Iracema Cia. Industrial e Agrícola Ometto - Fazenda Duas Matas - Sta. Gertrudes/SP	RB 72454 Segundo Corte	125,0

Tabela 01 – Descrição das características agronômicas das lavouras avaliadas nos Estados do Rio de Janeiro (10), Pernambuco (02), São Paulo (19) e Minas Gerais (17), continuação

Lavoura/ Local	Variedade/Ciclo	Safra 98/99 (Mg/ha)
* <i>Lavoura 29</i> – Usina Iracema Cia. Industrial e Agrícola Ometto – Fazenda Pão de Lote - Sta. Gertrudes/SP	RB 825336 Segundo Corte	65,0
* <i>Lavoura 30</i> – Usina Iracema Cia. Industrial e Agrícola Ometto – Fazenda San Pedro - Sta. Gertrudes/SP	SP 732233 Terceiro Corte	65,0
* <i>Lavoura 31</i> – Usina Iracema Cia. Industrial e Agrícola Ometto – Fazenda San Pedro - Sta. Gertrudes/SP	SP 801842 Segundo corte	62,0
Minas Gerais		
* <i>Lavoura 32</i> – Produtor/Fornecedor - Sítio Iracema - Oratórios/MG	RB 739359 Sexto Corte	50,0
* <i>Lavoura 33</i> – Produtor/Fornecedor - Sítio Pedreira - Oratórios/MG	RB 807515 Primeiro Corte	100,0
* <i>Lavoura 34</i> – Produtor/Fornecedor - Sítio Pedreira - Oratórios/MG	SP 791011 Primeiro Corte	80,0
* <i>Lavoura 35</i> – Produtor/Fornecedor - Sítio Pedreira - Oratórios/MG	SP 801842 Primeiro Corte	80,0
* <i>Lavoura 36</i> – Produtor/Fornecedor - Sítio Pedreira - Oratórios/MG	RB 72454 Primeiro Corte	75,0
* <i>Lavoura 37</i> – Produtor/Fornecedor - Sítio São Pedro - Oratórios/MG	SP 801842 Quinto Corte	60,0
* <i>Lavoura 38</i> – Usina Jatiboca S.A. – Sítio São João/MG	RB 739359 Primeiro Corte	100,0

Tabela 01 – Descrição das características agronômicas das lavouras avaliadas nos Estados do Rio de Janeiro (10), Pernambuco (02), São Paulo (19) e Minas Gerais (17), continuação

Lavoura/ Local	Variedade/Ciclo	Safra 98/99 (Mg/ha)
Lavoura 39 – Usina Jatiboca S.A. – Sítio São João/MG	CB 45-3 Primeiro Corte	80,0
Lavoura 40 – Usina Jatiboca S.A. – Sítio São João/MG	RB 867515 Primeiro corte	100,0
Lavoura 41 – Usina Jatiboca S.A. – Fazenda Mário Giardini Urucânia/MG	SP 791011 Segundo Corte	70,0
Lavoura 42 – Usina Jatiboca S.A. – Fazenda Décima Urucânia/MG	RB 739389 Terceiro Corte	60,0
Lavoura 43 – Usina Jatiboca S.A. – Fazenda Décima Urucânia/MG	RB 72454 Terceiro Corte	60,0
Lavoura 44 – Usina Jatiboca S.A. – Fazenda Bandeiras Urucânia/MG	SP 801842 Primeiro Corte	70,0
Lavoura 45 – Destilaria Atenas S.A Fazenda Aracati II– São Pedro dos Ferros/MG	RB 765418 Primeiro Corte	100,0
Lavoura 46 – Destilaria Atenas S.A Fazenda Aracati II– São Pedro dos Ferros/MG	RB 739354 Primeiro Corte	80,0
Lavoura 47 – Destilaria Atenas S.A Fazenda L-14 – São Pedro dos Ferros/MG	SP 701143 Primeiro Corte	Ne
Lavoura 48 – Destilaria Atenas S.A Fazenda Aracati – São Pedro dos Ferros/MG	SP 801842 Primeiro Corte	Ne

* Lavouras selecionadas para a estimativa da contribuição da Fixação Biológica de N₂, através da técnica da abundância natural de ¹⁵N ($\delta^{15}\text{N}$)

Tabela 02 – Descrição das classes e do manejo da fertilidade dos solos nas lavouras avaliadas nos Estados do Rio de Janeiro (10), Pernambuco (02), São Paulo (19) e Minas Gerais (17)

Lavoura/ Local	Classe de Solo	Correção e Adubação do Solo	
		Plantio	Manutenção
Rio de Janeiro			
* <i>Lavoura 01</i> - Estação Experimental "Dr. Leonel Miranda"/ UFRRJ – Campos dos Goytacazes	Cambissolo	KCl (150,0 kg/ha) MAP (100,0 kg/ha) Calagem (3,0 Mg/ha)	KCl (150.0 kg/ha) Uréia (100.0 kg/ha)
* <i>Lavoura 02</i> - Estação Experimental "Dr. Leonel Miranda"/ UFRRJ – Campos dos Goytacazes	Cambissolo	KCl (150,0 kg/ha) MAP (100,0 kg/ha) Calagem (3,0Mg/ha)	KCl (150.0 kg/ha) Uréia (100.0 kg/ha)
* <i>Lavoura 03</i> – Fazenda Guandu/Usina Barcelos S.A. – Campos dos Goytacazes/RJ	Podzólico Vermelho amarelo	KCl (150,0 kg/ha) MAP (100,0 kg/ha) Calagem	NPK 20-0-20 (300.0 kg/ha)
<i>Lavoura 04</i> - Fazenda São João – Usina Santa Cruz S/A – Campos dos Goytacazes /RJ	Cambissolo	KCl (135.0 kg/ha) MAP (100.0 kg/ha) Calagem Torta de filtro (16Mg/ha)	-
<i>Lavoura 05</i> -Fazenda Santa Cruz – Usina Santa Cruz S/A – Campos dos Goytacazes/RJ	Cambissolo	KCl (135.0 kg/ha) MAP (100.0 kg/ha) Calagem Torta de filtro (16t/ha)	K (Vinhaça) Uréia (100.0 kg/ha)
<i>Lavoura 06</i> - Fazenda Santana – Usina Santa Cruz S/A – Campos dos Goytacazes/RJ	Cambissolo	KCl (135.0 kg/ha) MAP (100.0 kg/ha) Calagem Torta de filtro (16t/ha)	-
<i>Lavoura 07</i> - Fazenda Santana – Usina Santa Cruz S/A – Campos dos Goytacazes/RJ	Cambissolo	KCl (135.0 kg/ha) MAP (100.0 kg/ha) Calagem (1,5 Mg/ha) Torta de filtro (16t/ha)	KCl (150.0 kg/ha) Uréia (100.0 kg/ha)

Tabela 02 – Descrição das classes e do manejo da fertilidade dos solos nas lavouras avaliadas nos Estados do Rio de Janeiro (10), Pernambuco (02), São Paulo (19) e Minas Gerais (17), continuação

Lavoura/ Local	Classe de Solo	Correção e Adubação do Solo	
		Plantio	Manutenção
* <i>Lavoura 08</i> - Fazenda Grande - Usina Santa Cruz S/A - Campos dos Goytacazes/RJ	Solo Turfoso	KCl (160.0 kg/ha) MAP (100.0 kg/ha) Calagem Torta de filtro (16t/ha)	-
* <i>Lavoura 09</i> - Fazenda Conteiro - Usina Santa Cruz S/A - Campos dos Goytacazes/RJ	Latossolo Amarelo	KCl (160.0 kg/ha) MAP (100.0 kg/ha) Calagem	KCl (150.0 kg/ha) Uréia (100.0 kg/ha)
<i>Lavoura 10</i> - Fazenda Conteiro - Usina Santa Cruz S/A - Campos dos Goytacazes/RJ	Latossolo Amarelo	KCl (160.0 kg/ha) MAP (100.0 kg/ha) Calagem	KCl (150.0 kg/ha) Uréia (100.0 kg/ha)
Pernambuco			
* <i>Lavoura 11</i> - Engenho Camaúba- Usina Cruangi- Timbaúba/PE	Bruno não Cálcico	NPK 0-42-0 (300.0 kg/ha)	NPK 5-0-45 (400.0 kg/ha)
* <i>Lavoura 12</i> - Engenho Camaúba- Usina Cruangi- Timbaúba/PE	Bruno não Cálcico	NPK 0-42-0 (300.0 kg/ha)	NPK 5-0-45 (400.0 kg/ha)
São Paulo			
<i>Lavoura 13</i> - Usina Iracema Cia. Industrial e Agrícola Ometto - Fazenda Santana de Cima - Sta. Gertrudes/SP	Areia Quartzosa	NPK 04-10-10 (250kg/ha) Torta de Filtro (15Mg/ha)	NPK 07-0-15 (250kg/ha)

Tabela 02 – Descrição das classes e do manejo da fertilidade dos solos nas lavouras avaliadas nos Estados do Rio de Janeiro (10), Pernambuco (02), São Paulo (19) e Minas Gerais (17), continuação

Lavoura/ Local	Classe de Solo	Correção e Adubação do Solo	
		Plantio	Manutenção
<i>Lavoura 14</i> – Usina Iracema Cia. Industrial e Agrícola Ometto – Fazenda Santa Eulália - Sta. Gertrudes/SP	Areia Quartzosa	NPK 04-10-10 (250kg/ha) Torta de Filtro (15Mg/ha)	NPK 07-0-15 (250kg/ha)
<i>Lavoura 15</i> – Usina Iracema Cia. Industrial e Agrícola Ometto – Fazenda Monte Alegre- Sta. Gertrudes/SP	Areia Quartzosa	NPK 04-10-10 (250kg/ha) Torta de Filtro (15Mg/ha)	NPK 07-0-15 (250kg/ha)
<i>Lavoura 16</i> – Usina Iracema Cia. Industrial e Agrícola Ometto – Fazenda Santa Eulália - Sta. Gertrudes/SP	Latossolo Vermelho Escuro	NPK 04-10-10 (250kg/ha) Torta de Filtro (15Mg/ha)	NPK 07-0-15 (250kg/ha)
* <i>Lavoura 17</i> – Usina São José - Fazenda 56 (Grupo Zillo Lorenzetti)- Macatuba/SP	Latossolo Roxo	NPK 04-09-13 (1000L/ha) Torta Filtro (15 Mg/ha)	NPK 10-00-12 (1000 L/ha)
* <i>Lavoura 18</i> – Usina São José - Fazenda 59 (Grupo Zillo Lorenzetti)- Macatuba/SP	Latossolo Escuro	NPK 04-09-13 (1000L/ha) Torta Filtro (15 Mg/ha)	NPK 10-00-12 (1000 L/ha) Vinhaça (300 L/ha)
* <i>Lavoura 19</i> – Usina São José - Fazenda 54 (Grupo Zillo Lorenzetti)- Macatuba/SP	Latossolo Escuro	NPK 04-03-13 (1000L/ha) Vinhaça (300 m ³ /ha) Torta Filtro (15 Mg/ha)	-
* <i>Lavoura 20</i> – Usina São José - Fazenda 51 (Grupo Zillo Lorenzetti)- Macatuba/SP	Latossolo Roxo	NPK 04-09-13 (1000L/ha) Torta Filtro (15 Mg/ha)	-
* <i>Lavoura 21</i> – Usina Santa Cruz OP – Fazenda Bom Retiro Araraquara/SP	Areia Quartzosa	NE	NPK 18-07-27 (400 kg/ha)

Tabela 02 – Descrição das classes e do manejo da fertilidade dos solos nas lavouras avaliadas nos Estados do Rio de Janeiro (10), Pernambuco (02), São Paulo (19) e Minas Gerais (17), continuação

Lavoura/ Local	Classe de Solo	Correção e Adubação do Solo	
		Plantio	Manutenção
* Lavoura 22 – Usina Santa Cruz OP – Fazenda Bom Retiro Araraquara/SP	Areia Quartzosa	NE	NPK 18-07-27 (400 kg/ha)
* Lavoura 23 – Usina Santa Cruz OP – Fazenda Bom Retiro Araraquara/SP	NE	NE	NPK 18-07-27 (400 kg/ha)
* Lavoura 24 – Usina Santa Cruz OP – Fazenda Barrinha Araraquara/SP	Areia Quartzosa	NE	NPK 18-07-27 (400 kg/ha)
* Lavoura 25 – Usina Santa Cruz OP – Fazenda Luzia Araraquara/SP	Latossolo Vermelho amarelo	NE	NPK 18-07-27 (400 kg/ha)
* Lavoura 26 – Usina Santa Cruz OP – Fazenda Serrito Araraquara/SP	Latossolo Vermelho escuro	NE	Vinhaça (150m ³ /ha)
* Lavoura 27 – Usina Santa Cruz OP – Fazenda Serrito Araraquara/SP	Latossolo Vermelho	NE	Vinhaça (150m ³ /ha)
* Lavoura 28 – Usina Iracema Cia. Industrial e Agrícola Ometto – Fazenda Duas Matas – Sta. Gertrudes/SP	Latossolo Vermelho Escuro	NPK 04-10-10 (250kg/ha) Torta de Filtro (15Mg/ha)	NPK 07-0-15 (250kg/ha) Vinhaça (100 m ³ /ha)
* Lavoura 29 – Usina Iracema Cia. Industrial e Agrícola Ometto – Fazenda Pão de Lote – Sta. Gertrudes/SP	Latossolo Roxo	NPK 04-09-13 (1000L/ha) Torta Filtro (15 Mg/ha)	NPK 10-00-12 (1000 L/ha) Vinhaça (300 L/ha)
* Lavoura 30 – Usina Iracema Cia. Industrial e Agrícola Ometto – Fazenda San Pedro – Sta. Gertrudes/SP	Latossolo Vermelho Escuro	NPK 04-09-13 (1000L/ha) Torta Filtro (15 Mg/ha)	NPK 10-00-12 (1000 L/ha) Vinhaça (300 L/ha)

Tabela 02 – Descrição das classes e do manejo da fertilidade dos solos nas lavouras avaliadas nos Estados do Rio de Janeiro (10), Pernambuco (02), São Paulo (19) e Minas Gerais (17), continuação.

Lavoura/ Local	Classe de Solo	Correção e Adubação do Solo	
		Plantio	Manutenção
* <i>Lavoura 31</i> – Usina Iracema Cia. Industrial e Agrícola Ometto – Fazenda San Pedro – Sta. Gertrudes/SP	Latossolo Vermelho Amarelo	NPK 04-09-13 (1000L/ha) Torta Filtro (15 Mg/ha)	NPK 10-00-12 (1000 L/ha) Vinhaça (300 L/ha)
Minas Gerais			
* <i>Lavoura 32</i> – Produtor/Fomecedor - Sítio Iracema - Oratórios/MG	Latossolo Vermelho amarelo	Calcário (1,50Mg/ha) NPK 06-24-30 (500 kg/ha)	NPK 14-06-24 (500 kg/ha)
* <i>Lavoura 33</i> – Produtor/Fomecedor - Sítio Pedreira - Oratórios/MG	Latossolo Vermelho amarelo	Calcário (1,50Mg/ha) NPK 06-24-30 (500 kg/ha)	-
* <i>Lavoura 34</i> – Produtor/Fomecedor - Sítio Pedreira - Oratórios/MG	Latossolo Vermelho amarelo	Calcário (1,50Mg/ha) NPK 06-24-30 (500 kg/ha)	-
* <i>Lavoura 35</i> – Produtor/Fomecedor - Sítio Pedreira - Oratórios/MG	Latossolo Vermelho amarelo	Calcário (1,50Mg/ha) NPK 06-24-30 (500 kg/ha)	-
* <i>Lavoura 36</i> – Produtor/Fomecedor - Sítio Pedreira - Oratórios/MG	Latossolo Vermelho amarelo	Calcário (1,50Mg/ha) NPK 06-24-30 (500 kg/ha)	-
* <i>Lavoura 37</i> – Produtor/Fomecedor - Sítio São Pedro - Oratórios/MG	Latossolo Vermelho	Calcário (1,50Mg/ha) NPK 06-24-30 (500 kg/ha)	NPK 14-06-24 (500 kg/ha)

Tabela 02 – Descrição das classes e do manejo da fertilidade dos solos nas lavouras avaliadas nos Estados do Rio de Janeiro (10), Pernambuco (02), São Paulo (19) e Minas Gerais (17), continuação

Lavoura/ Local	Classe de Solo	Correção e Adubação do Solo	
		Plantio	Manutenção
* <i>Lavoura 38</i> – Usina Jatiboca S. ^a – Sítio São João/MG	Latossolo Amarelo	Calcário (2,0 Mg/ha) NPK 06-30-24 (400 kg/ha)	NPK 14-06-24 (500 kg/ha)
<i>Lavoura 39</i> – Usina Jatiboca S. ^a – Sítio São João/MG	Latossolo Amarelo	Calcário (4,0 Mg/ha) NPK 06-30-24 (400 kg/ha)	NPK 14-06-24 (500 kg/ha)
<i>Lavoura 40</i> – Usina Jatiboca S. ^a – Sítio São João/MG	Latossolo Vermelho	Calcário (3,0 Mg/ha) NPK 06-30-24 (400 kg/ha)	NPK 14-06-24 (500 kg/ha)
<i>Lavoura 41</i> – Usina Jatiboca S. ^a – Fazenda Mário Giardini Urucânia/MG	Latossolo Amarelo	Calcário (2,0 Mg/ha) NPK 06-30-24 (400 kg/ha)	NPK 14-06-24 (500 kg/ha)
<i>Lavoura 42</i> – Usina Jatiboca S. ^a – Fazenda Décima Urucânia/MG	Latossolo Amarelo	Calcário (1,7 Mg/ha) NPK 06-30-24 (400 kg/ha)	NPK 14-06-24 (500 kg/ha)
<i>Lavoura 43</i> – Usina Jatiboca S. ^a – Fazenda Décima Urucânia/MG	Latossolo Amarelo	Calcário (2,0 Mg/ha) NPK 06-30-24 (400 kg/ha)	NPK 14-06-24 (500 kg/ha)
<i>Lavoura 44</i> – Usina Jatiboca S.A. – Fazenda Bandeiras Urucânia/MG	Latossolo Amarelo	Calcário (2,0 Mg/ha) Superfosfato simples (400 kg/ha)	Vinhaça (400 m ³ /ha)

Tabela 02 – Descrição das classes e do manejo da fertilidade dos solos nas lavouras avaliadas nos Estados do Rio de Janeiro (10), Pernambuco (02), São Paulo (19) e Minas Gerais (17), continuação

Lavoura/ Local	Classe de Solo	Correção e Adubação do Solo	
		Plantio	Manutenção
Lavoura 45 – Destilaria Atenas S.A Fazenda Aracati II – São Pedro dos Ferros/MG	Cambissolo	Calcário (5,0 Mg/ha) NPK 00-15-25 (500 kg/ha)	NPK 10-00-25 (500 kg/ha)
Lavoura 46 – Destilaria Atenas S.A Fazenda Aracati II – São Pedro dos Ferros/MG	Latossolo Amarelo	Calcário (5,0 Mg/ha) NPK 00-15-25 (500 kg/ha)	NPK 10-00-25 (500 kg/ha)
Lavoura 47 – Destilaria Atenas S.A Fazenda L-14 – São Pedro dos Ferros/MG	Cambissolo	Calcário (5,0 Mg/ha) NPK 00-15-25 (500 kg/ha)	NPK 10-00-25 (500 kg/ha)
Lavoura 48 – Destilaria Atenas S.A Fazenda Aracati – São Pedro dos Ferros/MG	Latossolo Amarelo	Calcário (5,0 Mg/ha) NPK 00-15-25 (500 kg/ha)	NPK 10-00-25 (500 kg/ha)

* Lavouras avaliadas para a estimativa da contribuição da Fixação Biológica de N₂, através da técnica da abundância natural de ¹⁵N (δ¹⁵N)
NE = Não Informado

Tabela 03 – Lista de espécies de plantas de ocorrência natural nas lavouras, utilizadas como testemunhas para a aplicação da técnica de $\delta^{15}\text{N}$. (Entre parênteses: nome popular das espécies em língua portuguesa)

Código	Espécies de plantas consideradas testemunhas
	Nome Científico (Nome Popular)
Lavoura 01	<i>Sidastrum</i> sp. (Malva) <i>Sida cordifolia</i> (Malva Branca) <i>Marsypianthes chamaedrys</i> (Betônia Brava) <i>Panicum maximum</i> (Capim colônia) <i>Crotalaria incana</i> (Xique-Xique) †
Lavoura 02	<i>Acanthospermum australe</i> (Capim Carrapixo) <i>Bidens Pilosa</i> (Picão Preto) <i>Croton Lobatus</i> (Café Preto) <i>Commelina benghalensis</i> (Trapoeiraba) <i>Ipomea grandifolia</i> (Cipó Corda-de-viola)
Lavoura 03	<i>Merremia cissoides</i> (Corda-de-viola) <i>Euphorbia brasiliensis</i> (Erva de Santa Luzia) <i>Sida rhombifolia</i> (Gauxumo) <i>Eleusine indica</i> (Capim pé-de-galinha) <i>Brachiaria mutica</i> (Capim Angola) <i>Marsypianthes chamaedrys</i> (Betônia Brava)
Lavoura 08	<i>Parthenium hysterophorus</i> (Losna Branca) <i>Chenopodium album</i> (Fedegoso) <i>Acanthospermum</i> sp. (Carrapixo) <i>Euphorbia brasiliensis</i> (Erva de Santa Luzia)
Lavoura 11	Capim Achó <i>Panicum maximum</i> (Capim Colônia) <i>Ageratum conyzoides</i> (Mentraso) <i>Brachiaria mutica</i> (Capim angola)
Lavoura 12	<i>Monordia charantia</i> (Melão de São Caetano)
Lavoura 17	<i>Sonchus spontaneum</i> (Serralha) <i>Amaranthus</i> sp. (Caruru-de-mancha) <i>Erechtites hieracifolia</i> (Caruru-amargoso)

† = Planta com alto potencial de receber contribuições da FBN para a sua acumulação de N

Tabela 03 – Lista de espécies de plantas de ocorrência natural nas lavouras, utilizadas como testemunhas para a aplicação da técnica de $\delta^{15}\text{N}$. (Entre parênteses: nome popular das espécies em língua portuguesa), continuação.

Código	Espécies de plantas consideradas testemunhas
	Nome Científico (Nome Popular)
Lavoura 18	<i>Eragrostis pilosa</i> (Capim Barbicha-de-alemão) <i>Sida rhombifolia</i> (Guaxuma) <i>Bidens Pilosa</i> (Picão Preto)
Lavoura 19	<i>Eragrostis pilosa</i> (Capim Barbicha-de-alemão) <i>Sida rhombifolia</i> (Guaxuma) <i>Bidens Pilosa</i> (Picão Preto)
Lavoura 20	<i>Panicum maximum</i> (Colonião) <i>Cynodon dactylon</i> (Grama Seda)
Lavoura 21	<i>Emilia sonchifolia</i> (Falsa Serralha) <i>Brachiaria decumbens</i> <i>Commelina benghalensis</i> (Trapoeiraba) <i>Sida santarinensis</i> (Vassoura) <i>Cynodon dactylon</i> (Grama Seda)
Lavoura 22	<i>Euphorbia brasiliensis</i> (Erva de Santa Luzia) <i>Brachiaria mutica</i> (Capim Angola)
Lavoura 25	<i>Sida</i> sp. <i>Sidastrum micranthum</i> (Malva Preta) <i>Digitaria insularis</i> (Capim amargoso) <i>Cyperus rotundus</i> (Tiririca)
Lavoura 26	<i>Emilia sonchifolia</i> (Falsa Serralha) <i>Panicum maximum</i> (Capim colônião)
Lavoura 27	<i>Parthenium hysterophorus</i> (Losna Branca) <i>Coronopus didymus</i> (Mastruço) <i>Panicum maximum</i> (Capim colônião)
Lavoura 28	<i>Melina minutiflora</i> (Capim Gordura) <i>Sonchus expositum</i> (Serralha)
Lavoura 29	<i>Emilia sonchifolia</i> (Falsa Serralha) <i>Panicum maximum</i> (Capim colônião) <i>Sida rhombifolia</i> (Guaxuma)
Lavoura 30	<i>Emilia sonchifolia</i> (Falsa Serralha)

Tabela 03 – Lista de espécies de plantas de ocorrência natural nas lavouras, utilizadas como testemunhas para a aplicação da técnica de $\delta^{15}\text{N}$. (Entre parênteses: nome popular das espécies em língua portuguesa), continuação.

Código	Espécies de plantas consideradas testemunhas Nome Científico (Nome Popular)
Lavoura 31	<i>Emilia sonchifolia</i> (Falsa Serralha) <i>Euphorbia brasiliensis</i> (Erva de Santa Luzia) <i>Acanthospermum australe</i> (Capim Carrapixo)
Lavoura 32	<i>Commelina benghalensis</i> (Trapoeiraba) ND (Assapeixe) <i>Panicum maximum</i> (Capim Colônia)
Lavoura 33	<i>Sida rhombifolia</i> (Guaxuma) <i>Melins minutiflora</i> (Capim Gordura) <i>Eleusine indica</i> (Capim pé-de-galinha)
Lavoura 34	<i>Bidens pilosa</i> (Picão Preto) <i>Panicum maximum</i> (Mastruço)
Lavoura 35	<i>Bidens pilosa</i> (Picão Preto) <i>Commelina benghalensis</i> (Trapoeiraba) <i>Emilia sonchifolia</i> (Falsa Serralha) <i>Panicum maximum</i> (Capim Colônia)
Lavoura 36	<i>Bidens pilosa</i> (Picão Preto) <i>Commelina benghalensis</i> (Trapoeiraba) <i>Emilia sonchifolia</i> (Falsa Serralha) <i>Panicum maximum</i> (Capim Colônia)
Lavoura 37	<i>Ipomea acuminata</i> (corda-de-viola) <i>Digitaria insularis</i> (Capim-flexa) <i>Hipanhenea rufa</i> (Capim jaraguá) Cipó de São João
lavoura 38	<i>Digitaria insularis</i> (Capim-flexa) <i>Panicum maximum</i> (Colônia) <i>Melins minutiflora</i> (Capim gordura)
Lavoura 39	<i>Brachiaria</i> sp. <i>Brachiaria mutica</i> (Capim angola)

Tabela 04 – Características químicas das amostras de terra nas lavouras de cana-de-açúcar avaliadas (Embrapa, 1997) ^{Método}

Código	N ¹ dag/kg	MO ²	pH ³	Al ⁴	Ca + Mg ⁵	Ca cmol/dm ³	Mg	H + Al ⁶	P ⁷ mg/dm ³	K ⁸
Lavoura 01	0,25	2,27	5,70	0,00	9,00	5,55	3,45	4,05	4,75	61,75
Lavoura 02	0,26	2,36	5,67	0,00	9,20	5,73	3,47	4,05	4,00	47,67
Lavoura 03	0,22	2,10	4,10	0,40	1,38	0,80	0,58	3,60	5,25	33,00
Lavoura 04	0,22	2,28	5,30	0,63	6,53	4,98	1,55	1,65	108,75	298,75
Lavoura 05	0,20	2,08	5,05	0,10	7,80	4,93	2,88	4,20	9,25	273,75
Lavoura 06	0,21	2,22	5,98	0,00	8,00	5,03	2,98	4,05	10,00	236,25
Lavoura 07	0,15	1,89	5,80	0,00	9,50	6,10	3,40	ND	45,00	340,00
Lavoura 08	1,00	18,60	4,73	1,15	5,48	3,35	2,13	33,60	13,00	31,50
Lavoura 09	0,22	2,39	4,13	0,60	1,53	0,80	0,73	4,20	3,25	53,25
Lavoura 10	0,18	1,99	4,53	0,33	2,38	1,35	1,03	3,75	3,00	62,25
Lavoura 11	0,17	1,95	6,25	0,00	12,50	8,45	4,05	ND	186,50	295,00
Lavoura 12	0,23	2,48	6,03	0,00	9,70	7,40	2,30	ND	635,33	248,33
Lavoura 13	0,16	0,68	5,63	0,00	2,53	1,83	0,70	2,05	7,00	13,00
Lavoura 14	0,09	0,85	4,60	0,48	1,23	1,50	0,80	2,70	11,25	13,50
Lavoura 15	0,19	2,11	5,45	0,00	5,55	4,20	1,35	4,20	1,50	45,50
Lavoura 16	0,10	0,73	4,73	0,58	0,98	1,40	0,70	5,10	6,25	17,00

Método

1 - Destilação a vapor e titulação em extrato sulfúrico, pela técnica de Kjeldahl

2 - Walkley e Balck (1965)

3 - pH em água solo/água 1:25

4 - Titulação em extrato de KCl (1,0 M), com NaOH

5 - Titulação com EDTA em extrato de KCl (1,0M)

6 - Titulação em extrato de Acetato de Cálcio, com hidróxido de sódio

7 - Espectrofotometria em Azul de Molibdênio, em extrato de H₂SO₄ + HCl (0,025M e 0,125M) (Braga e Defelipo, 1974)8 - Espectrometria de chama em extrato de H₂SO₄ + HCl (0,025M e 0,125M)

ND - Não Determinado

Tabela 04 – Características químicas das amostras de terra nas lavouras de cana-de-açúcar avaliadas (Embrapa, 1997)

Código	N ¹	MO ² dag/kg	pH ³	Al ⁴	Ca + Mg ⁵	Ca		Mg	H + Al ⁶	P ⁷	K ⁸	
						cmol/dm ³	cmol/dm ³				mg/dm ³	mg/dm ³
Lavoura 17	0,09	1,62	5,50	0,03	5,60	4,28	1,33	ND	13,75	217,50		
Lavoura 18	0,04	0,67	5,64	0,00	2,36	1,40	0,96	1,54	16,80	33,60		
Lavoura 19	0,05	0,85	6,13	0,00	3,68	2,08	1,60	1,35	29,25	54,00		
Lavoura 20	0,12	1,95	6,25	0,00	7,33	5,00	2,33	ND	7,50	30,25		
Lavoura 21	0,04	0,82	5,47	0,03	2,27	1,47	0,80	2,10	7,00	44,67		
Lavoura 22	0,05	0,80	6,55	0,00	4,03	2,65	1,38	0,75	35,25	27,00		
Lavoura 23	0,03	0,60	5,73	0,00	2,78	2,03	0,75	1,35	17,00	23,50		
Lavoura 24	0,04	0,82	5,47	0,03	2,27	1,47	0,80	2,10	7,00	44,67		
Lavoura 25	0,03	0,59	6,98	0,00	3,40	2,73	0,68	3,98	11,25	10,75		
Lavoura 26	0,04	0,87	5,90	0,00	2,68	1,93	0,75	1,80	6,50	20,75		
Lavoura 27	0,10	1,50	4,58	0,58	2,13	1,28	0,85	4,73	2,50	59,00		
Lavoura 28	0,16	2,55	5,83	0,03	5,85	4,33	1,53	3,23	28,25	395,50		
Lavoura 29	0,06	1,03	6,95	0,00	5,28	4,45	0,83	0,38	51,50	68,75		
Lavoura 30	0,06	1,05	5,38	0,05	3,20	2,08	1,13	2,15	6,50	106,75		
Lavoura 31	0,13	0,44	6,20	0,00	3,60	2,23	1,37	1,05	14,67	63,67		
Lavoura 32	0,12	1,86	5,00	0,15	3,18	2,31	0,87	3,60	5,75	78,00		
Lavoura 33	0,13	2,14	5,93	0,00	5,83	3,73	2,10	3,75	11,67	69,00		
Lavouras 34	0,25	2,68	5,25	0,00	4,55	2,90	1,65	4,43	4,50	56,00		
Lavouras 35	0,25	2,68	5,25	0,00	4,55	2,90	1,65	4,43	4,50	56,00		
Lavoura 36	0,01	0,09	1,58	4,80	0,38	2,65	1,65	5,60	1,00	4,50		
Lavoura 37	0,11	2,28	5,98	0,00	4,95	3,40	1,55	6,53	4,50	57,25		
Lavoura 38	0,11	1,98	4,68	0,65	2,23	1,33	0,90	4,65	4,50	59,50		
Lavoura 39	0,10	1,53	4,45	0,60	1,93	1,05	0,88	4,50	2,75	47,25		

Tabela 04 – Características químicas das amostras de terra nas lavouras de cana-de-açúcar avaliadas (Embrapa, 1997)

Código	N ¹ dag/kg	MO ² dag/kg	pH ³	Al ⁴	Ca + Mg ⁵ cmol/dm ³	Ca cmol/dm ³	Mg	H + Al ⁶	P ⁷ mg/dm ³	K ⁸
Lavoura 40	0,11	1,78	4,93	0,05	3,98	2,88	1,10	3,45	2,75	47,50
Lavoura 41	0,14	1,50	4,58	0,43	2,23	1,33	0,90	5,70	4,00	32,75
Lavoura 42	0,15	2,21	4,27	0,77	1,73	1,07	0,67	5,93	6,00	47,33
Lavoura 43	0,17	3,08	4,60	0,25	4,58	3,28	1,30	8,10	14,75	407,50
Lavoura 44	0,16	2,58	5,25	0,00	4,43	2,78	1,65	4,20	2,75	41,00
Lavoura 45	0,11	1,72	4,65	0,25	2,58	1,55	1,03	4,73	4,25	33,00
Lavoura 46	0,23	2,84	4,93	0,15	3,38	2,05	1,33	4,80	6,00	50,25
Lavoura 47	0,12	1,78	4,18	0,53	2,13	1,33	0,80	4,88	2,00	39,50
Lavoura 48	0,12	1,78	4,18	0,53	2,13	1,33	0,80	4,88	2,00	39,50

Tabela 05 – Teores de Areia Grossa, Areia fina, Silte e Argila (dag/kg) nas amostras de terras nas lavouras avaliadas. (Embrapa, 1997)

Código	Areia Grossa	Areia Fina	Silte	Argila
	dag/kg			
Lavoura 01	6	12	48	35
Lavoura 02	5	11	48	37
Lavoura 03	60	15	6	19
Lavoura 04	10	16	46	29
Lavoura 05	6	16	38	40
Lavoura 06	5	17	45	34
Lavoura 07	7	14	42	37
Lavoura 08	Material Orgânico	-	-	-
Lavoura 09		16	5	30
Lavoura 10	50	15	9	27
Lavoura 11	49	23	15	27
Lavoura 12	35	23	15	27
Lavoura 13	35	14	3	6
Lavoura 14	77	14	3	8
Lavoura 15	76	17	7	60
Lavoura 16	16	10	3	6
Lavoura 17	82	17	8	63
Lavoura 18	12	34	3	12
Lavoura 19	51	24	5	13
Lavoura 20	58	10	10	71
Lavoura 21	9	30	2	9
Lavoura 22	54	38	3	9
Lavoura 23	50	40	4	5
Lavoura 24	51	44	5	15
Lavoura 25	36	23	2	7
Lavoura 26	69	32	4	25
Lavoura 27	40	25	10	54
Lavoura 28	18	12	26	54
Lavoura 29	9	46	6	18
Lavoura 30	29	40	14	18
Lavoura 31	29	35	13	40
Lavoura 32	24	13	14	46
Lavoura 33	33	11	10	46
Lavoura 34	34	13	9	46
Lavoura 35	34	13	9	31
Lavoura 36	34	15	10	43
Lavoura 37	44	12	18	53
Lavoura 38	27	13	10	51
Lavoura 39	24	15	11	
	25			

Tabela 05 – Teores de Areia Grossa, Areia fina, Silte e Argila (dag/kg) nas amostras de terras nas lavouras avaliadas. (Embrapa, 1997), continuação

Código	Areia Grossa	Areia Fina	Silte	Argila
	dag/kg			
			18	29
Lavoura 40	40	14	14	49
Lavoura 41	26	12	12	55
Lavoura 42	21	12	8	54
Lavoura 43	26	12	30	47
Lavoura 44	18	6	14	43
Lavoura 45	30	14	25	66
Lavoura 46	5	5	19	43
Lavoura 47	29	9	19	43
Lavoura 48	29	9		

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.3.1 ESTIMATIVA DA CONTRIBUIÇÃO DA FBN PARA AS PLANTAS NA CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR

O uso de plantas de ocorrência natural nas lavouras de cana-de-açúcar (plantas invasoras), “plantas testemunha”, para estimar o valor da abundância natural de ^{15}N disponível no solo, ou seja, o valor de $\delta^{15}\text{N}$ observado em plantas que utilizam apenas o N proveniente do solo, foi avaliado comparando-se os valores de $\delta^{15}\text{N}$ nestas plantas com aqueles observados nas plantas de cana-de-açúcar, em cada uma das lavouras em estudo (Tabela 06). De uma maneira geral, os valores de $\delta^{15}\text{N}$ nas plantas testemunhas em cada lavoura foram iguais ou significativamente maiores que os observados na cana-de-açúcar, possibilitando a aplicação da técnica de $\delta^{15}\text{N}$ para a estimativa da contribuição da FBN para a cana-de-açúcar, como estipulado por Shearer e Kohl (1986). A estimativa da contribuição da FBN para as plantas de cana-de-açúcar, neste estudo, foi realizada somente quando o valor médio de $\delta^{15}\text{N}$ da espécie de planta testemunha foi significativamente maior que o observado na planta de cana-de-açúcar, avaliados pelo teste de t-student, como proposto por Boddey et al. (2001) (Tabela 06).

Apenas nas lavouras 21, 29, 36, 37 e 39 observaram-se valores de $\delta^{15}\text{N}$ nas plantas testemunhas significativamente menores que na cana-de-açúcar nas espécies *Brachiaria decumbens* (lavouras 21 e 39), *B. mutica* (lavoura 39), *Commelina benghalensis* (Trapoeiraba) (lavoura 36) e *Hiparrhenia rufa* (Capim jaraguá) (Lavoura 37). Nestas mesmas lavouras, excetuando-se a lavoura 39, outras espécies de plantas invasoras apresentaram valores de $\delta^{15}\text{N}$ iguais ou maiores que o observado na cana-de-açúcar, implicando a importância da amostragem de um maior número de espécies de plantas invasoras como testemunha, e que pertençam a diferentes famílias botânicas e

Tabela 06 – Estimativa da contribuição da FBN (%Ndfa) associada à cultura da cana-de-açúcar em diferentes regiões do Brasil pelo uso da técnica de abundância natural de ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$)

Lavoura	Variedade/ ciclo cultural	Espécies testemunhas	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	%Ndfa
Lavoura 01	CB 45-3 – Segundo Corte	-	$5,33 \pm 0,16^\ddagger$	-
		<i>Sidrastrum</i> sp.	$7,85 \pm 0,45$	32,12*
		<i>Sida cordifolia</i>	$10,58 \pm 1,70$	49,6*
		<i>Marsypianthes chamaedrys</i>	$5,77 \pm 1,90$	NS
		<i>Panicum maximum</i>	$5,03 \pm 0,35$	NS
		<i>Crotalaria incana</i> ‡	$-0,52 \pm 0,02$	-
		-	$5,34 \pm 0,24$	-
Lavoura 02	RB-72454 - Segundo Corte	-	-	-
		<i>Acanthospermum australe</i>	$7,96 \pm 1,07$	32,91*
		<i>Bidens pilosa</i>	$8,06 \pm 0,27$	33,80*
		<i>Croton lobatus</i>	$9,82 \pm 0,14$	45,60*
		<i>Commelina benghalensis</i>	$6,90 \pm 0,33$	22,60*
		<i>Sida rhombifolia</i>	$8,02 \pm 0,07$	33,45*
		<i>Ipomea grandifolia</i>	$10,05 \pm 0,05$	46,89*
		-	$7,07 \pm 0,19$	-
Lavoura 03	RB-72454 - Segundo Corte	-	-	-
		<i>Merremia cissoides</i>	$10,36 \pm 0,05$	31,74*
		<i>Euphorbia brasiliensis</i>	$12,23 \pm 0,02$	42,17*
		<i>Sida rhombifolia</i>	$8,92 \pm 0,05$	20,74*
		<i>Eleusine indica</i>	$10,33 \pm 0,08$	31,57*
		<i>Brachiaria mutica</i>	$8,04 \pm 0,12$	12,09
		<i>Marsypianthes chamaedrys</i>	$9,63 \pm 0,16$	26,60*
		<i>Eclipta alba</i>	$9,85 \pm 0,01$	28,22*
		-	$6,51 \pm 0,38$	-
Lavoura 08	SP 701143 - Primeiro Corte	-	-	-
		<i>Partenium hysterophorus</i>	$6,08 \pm 0,15$	NS
		<i>Chenopodium album</i>	$7,04 \pm 0,04$	NS
		<i>Acanthospermum australe</i>	$7,96 \pm 0,76$	18,28*
		<i>Euphorbia heterophila</i>	$9,35 \pm 0,75$	30,43*
		-	$6,20 \pm 0,56$	-
Lavoura 11	RB 784764 - Segundo Corte	-	-	-
		Capim Achó	$12,82 \pm 0,02$	51,64*
		<i>Panicum maximum</i>	$7,83 \pm 0,10$	20,82*
		<i>Ageratum conyzoides</i>	$9,91 \pm 0,08$	37,42*
		<i>Brachiaria mutica</i>	$8,87 \pm 0,21$	35,38*
		-	$13,20 \pm 1,36$	-
Lavoura 12	RB 83102 - Segundo Corte	-	-	-
		<i>Momordica charantia</i>	$26,48 \pm 0,09$	50,14*
		-	$6,80 \pm 0,23$	-
Lavoura 17	SP 801842 - Terceiro Corte	-	-	-
		<i>Sonchus expontaneum</i>	$9,17 \pm 0,30$	25,9*
		<i>Amaranthus</i> sp.	$12,92 \pm 0,07$	47,4*
		<i>Erechitites heracifolia</i>	$7,20 \pm 0,22$	NS

Tabela 06 – Estimativa da contribuição da FBN (%Ndfa) na cultura da cana-de-açúcar em diferentes regiões do Brasil pelo uso da técnica de abundância natural de ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$), continuação.

Lavoura	Variedade/ ciclo cultural	Espécies testemunhas	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	%Ndfa
Lavoura 18	RB 72454 - Terceiro Corte	-	$5,17 \pm 0,07$	
		<i>Eragrostis pilosa</i>	$7,20 \pm 0,78$	28,22*
		<i>Sida rhombifolia</i>	$7,86 \pm 0,43$	34,22*
		<i>Bidens pilosa</i>	$4,22 \pm 0,07$	NS
		-	$4,92 \pm 0,56$	
Lavoura 19	RB 72454 Primeiro Corte	-	$7,88 \pm 0,05$	37,56*
		<i>Eragrostis pilosa</i>	$9,31 \pm 0,21$	45,68*
		<i>Sida rhombifolia</i>	$4,22 \pm 0,07$	NS
		<i>Bidens pilosa</i>	$6,29 \pm 0,22$	
Lavoura 20	SP 801842 - Primeiro Corte	-	$11,08 \pm 0,03$	45,17*
		<i>Panicum maximum</i>	$8,60 \pm 0,17$	26,79*
		<i>Cynodon dactylon</i>	$11,79 \pm 0,02$	46,65*
		<i>Melinis minutiflora</i>		
Lavoura 21	SP 701143 - Quinto Corte	-	$4,56 \pm 0,24$	NS
		<i>Emilia sonchifolia</i>	$3,75 \pm 0,50$	NE
		<i>Brachiaria decumbens</i>	$2,13 \pm 0,64^{**}$	28,45*
		<i>Commelina benghalensis</i>	$6,37 \pm 0,66$	47,56*
		<i>Sida rhombifolia</i>	$8,69 \pm 0,35$	51,90*
		<i>Cynodon dactylon</i>	$9,48 \pm 0,03$	
Lavoura 22	RB 806043 - Segundo Corte	-	$5,86 \pm 0,09$	NS
		<i>Euphorbia hirta</i>	$5,33 \pm 0,16$	NS
		<i>Brachiaria mutica</i>	$6,02 \pm 0,16$	
		-	$4,11 \pm 0,01$	
Lavoura 25	RB 835089 - Segundo Corte	-	$6,76 \pm 0,01$	39,12*
		<i>Sida sp.</i>	$5,55 \pm 0,02$	25,83*
		<i>Sidastrum micranthum</i>	$4,57 \pm 0,05$	NS
		<i>Digitaria insularis</i>	$8,43 \pm 1,51$	51,22*
		<i>Cyperus rotundum</i>	$3,59 \pm 0,07$	
Lavoura 26	SP 791011 - Quarto Corte	-	$6,02 \pm 0,45$	40,39*
		<i>Emilia sonchifolia</i>	$5,95 \pm 0,32$	39,69*
		<i>Panicum maximum</i>	$3,50 \pm 0,16$	
Lavoura 27	RB 813250 - Segundo Corte	-	$6,18 \pm 0,22$	43,30*
		<i>Parthenium hysterophorus.</i>	$6,13 \pm 0,88$	42,89*
		<i>Coronopus didymus</i>	$11,21 \pm 0,17$	69,22*
		<i>Panicum maximum</i>	$3,45 \pm 0,22$	
Lavoura 28	RB 72454 - Segundo Corte	-	$11,08 \pm 0,21$	68,87*
		<i>Panicum maximum</i>	$12,16 \pm 0,27$	71,61*
		<i>Melinis minutiflora</i>	$5,31 \pm 0,05$	34,98*
		<i>Sonchus exoptaneum</i>	$5,69 \pm 0,15$	
Lavoura 29	RB 825336 - Segundo Corte	-	$6,89 \pm 0,02$	17,48*
		<i>Emilia sonchifolia.</i>	$4,78 \pm 0,13$	NS
		<i>Panicum maximum</i>	$4,03 \pm 0,03^{**}$	NE
		<i>Sida rhombifolia</i>	$4,45 \pm 0,19$	
Lavoura 30	SP 732233 - Terceiro Corte	-	$5,42 \pm 0,45$	17,98*
		<i>Emilia sonchifolia</i>		

Tabela 06 – Estimativa da contribuição da FBN (%Nd_fa) na cultura da cana-de-açúcar em diferentes regiões do Brasil pelo uso da técnica de abundância natural de ¹⁵N (δ¹⁵N), continuação.

Lavoura	Variedade/ ciclo cultural	Espécies testemunhas	δ ¹⁵ N (‰)	%Nd _f a
Lavoura 31	SP 801842 – Segundo Corte	-	5,96 ± 0,39	
		<i>Emilia sonchifolia</i>	6,28 ± 0,47	NS
		<i>Euphorbia hirta</i>	5,78 ± 0,77	NS
		<i>Acanthospermum australe</i>	6,29 ± 0,04	NS
		-	4,32 ± 0,58	
Lavoura 32	RB 739359 – Sexto Corte	Assapeixe.	5,68 ± 1,49	23,94*
		-	8,87 ± 0,49	
Lavoura 33	SP 801842 – Primeiro Corte	<i>Sida rhombifolia</i>	8,60 ± 0,03	NS
		<i>Lepidium virginum</i>	7,90 ± 0,06	NS
		<i>Bidens pilosa</i>	8,20 ± 0,03	NS
		-	8,65 ± 0,21	
Lavoura 34	SP 791011 – Primeiro Corte	<i>Emilia sonchifolia</i>	6,89 ± 0,03	NS
		<i>Panicum maximum</i>	4,78 ± 0,06	NS
		-	5,20 ± 0,11	
Lavoura 35	RB 867515 – Primeiro Corte	<i>Sida rhombifolia</i>	8,60 ± 0,01	39,54*
		<i>Commelina benghalensis</i>	5,65 ± 0,01	NS
		<i>Emilia sonchifolia</i>	7,11 ± 0,02	26,86*
		<i>Panicum maximum</i>	9,08 ± 0,02	42,73*
		-	6,11 ± 0,19	
Lavoura 36	RB 72454 – Primeiro Corte	<i>Bidens pilosa</i>	7,60 ± 0,01	21,16*
		<i>Commelina benghalensis</i>	5,65 ± 0,01	NE
		<i>Emilia sonchifolia</i>	8,23 ± 0,03	27,18*
		<i>Panicum maximum</i>	9,08 ± 0,02	34,03*
		-	7,18 ± 0,86	
Lavoura 37	SP 801842 – Quinto Corte	<i>Ipomea</i> sp.	6,44 ± 0,97	NS
		<i>Digitaria insularis</i>	6,90 ± 0,60	NS
		<i>Hipphanhia rufa</i>	5,16 ± 0,44	NE
		<i>Cipó de São João</i>	8,43 ± 0,03	NS
		-	8,90 ± 0,45	
Lavoura 38	RB 739359 – Primeiro Corte	<i>Digitaria insularis</i>	9,38 ± 0,01	NS
		<i>Melins minutiflora</i>	7,28 ± 0,46	NS
		<i>Panicum maximum</i>	8,45 ± 0,25	NS
		-	7,72 ± 0,29	
Lavoura 39	CB 45-3 – Primeiro Corte	<i>Brachiaria</i> sp.	4,57 ± 1,18††	NE
		<i>Brachiaria mutica</i>	5,89 ± 0,50††	NE

* = Valores de δ¹⁵N diferentes pelo teste t-student entre as plantas de cana-de-açúcar e as plantas testemunhas, ao nível abaixo de 5% de probabilidade

NS = diferenças não estatísticas pelo teste t-student

† = Planta leguminosa com elevado potencial para a FBN

†† = Sítios que podem indicar contribuição da FBN para as espécies de *Brachiaria* (Boddey e Victória, 1986)

‡ = Erro padrão da Média

espécies (Boddey et al., 2001). Nas lavouras 21 e 39 os valores de $\delta^{15}\text{N}$ observados para estas espécies de plantas podem significar que existe contribuição da FBN para a *Brachiaria*, uma vez que Boddey e Victória (1986) evidenciaram que este gênero de plantas pode receber até 40% do total de N acumulado na biomassa deste processo, pois também apresentam associação com bactérias diazotróficas em diversidade bastante semelhante a que ocorre na cana-de-açúcar (Reis et al., 2001). Admitindo estes resultados, este gênero de plantas não poderia ser considerado como testemunha na estimativa da FBN por esta técnica, para a cultura da cana-de-açúcar (Tabela 06). Avaliando-se as outras duas espécies de plantas que apresentaram valores de $\delta^{15}\text{N}$ menores que os da cana-de-açúcar ($p < 0,05$), as espécies *Commelina benghalensis* (lavoura 36) e *Sida rhombifolia* (lavoura 37), quando utilizadas como testemunhas em outras lavouras (lavouras 02, 18, 21 e 33 da Tabela 06), apresentaram valores de $\delta^{15}\text{N}$ significativamente maiores que os observados na cana-de-açúcar.

Uma das condições estipuladas por alguns autores para que se caracterize a dependência de plantas do processo de FBN para na nutrição nitrogenada através da aplicação da técnica de $\delta^{15}\text{N}$, é que os valores observados nas plantas teste sejam menores que 5‰, ou que a diferença entre os valores de $\delta^{15}\text{N}$ na planta teste e a planta testemunha seja maior que 5‰ (Hogberg, 1997; Biggs, et al. 2001). Biggs et al. (2001) ao comentar os resultados publicados por Yoneyama et al. (1997) sugere que a estimativa da contribuição significativa da FBN para as plantas de cana-de-açúcar nos "sítios" avaliados (em muitos casos lavouras de cana-de-açúcar) pode ter sido equivocada, pois na maioria destes sítios (50%) as plantas de cana-de-açúcar apresentavam valores de $\delta^{15}\text{N}$ superiores a 5‰. No presente estudo, 50% dos valores de $\delta^{15}\text{N}$ observados na cana-de-açúcar também encontraram-se acima de 5‰ (Tabela 06), e portanto, também não satisfazem uma das condições estipuladas por aqueles autores. No entanto, a argumentação de Biggs et al. (2001) relativa a Yoneyama (1997) pode também ter sido equivocada em um aspecto, aquele que diz respeito ao valor máximo de $\delta^{15}\text{N}$ de 5 ‰ na planta de cana-de-açúcar, para se caracterizar a dependência da mesma do processo de FBN em sua nutrição nitrogenada. O conceito de que as plantas que recebem contribuição da FBN na nutrição nitrogenada devem apresentar valores de $\delta^{15}\text{N}$ próximos ao do ar ($\delta^{15}\text{N} = 0\text{‰}$), como colocado por diversos autores (ver Uncovich et al., 2000), aplicar-se-ia apenas às plantas com elevado potencial de receber quase que a totalidade do N-acumulado em sua biomassa via FBN, como a maioria das

plantas leguminosas. No caso da cana-de-açúcar, as contribuições máximas de FBN, observadas em condições ideais, foram de 60% (Lima et al., 1987, Urquiaga et al., 1992), indicando portanto, que mesmo em condições de significativa contribuição da FBN para a cana-de-açúcar os valores de $\delta^{15}\text{N}$ observados nestas plantas podem ser maiores que 5‰ (Yoneyama et al., 1997, Boddey et al., 2001), característica que dependerá essencialmente do valor de $\delta^{15}\text{N}$ do N-disponível no solo. Shearer e Kolh (1986) discutiram que a aplicação desta técnica para estimar a contribuição da FBN para as plantas deve ser feita em solos que apresentam o valor de $\delta^{15}\text{N}$ com no mínimo 2‰, para que seja possível a estimativa do erro experimental de amostragem e da análise de $\delta^{15}\text{N}$, separadamente da variação causada pela contribuição da FBN para a planta teste, e o valor do possível fracionamento isotópico do N na translocação dos compostos nitrogenados sintetizados a partir do "N-fixado" dentro da planta (Valor B).

Como exemplo, na lavoura 01 (Tabela 06), foi estimado o valor de $\delta^{15}\text{N}$ em uma espécie de planta leguminosa denominada *Crotalaria incana* (nome popular "Xique-Xique") a qual apresentava elevado número de nódulos considerados como ativos para a FBN, por apresentarem coloração avermelhada (Hungria et al., 1994). Estas plantas apresentaram $-0,52 \pm 0,02$ ‰ na sua parte aérea, indicando que nestas plantas a contribuição da FBN foi elevada, uma vez que os valores de $\delta^{15}\text{N}$ nas plantas testemunhas foram positivos. Considerando-se o valor de $\delta^{15}\text{N}$ observado em qualquer uma das plantas amostradas na mesma lavoura como testemunha, a contribuição da FBN para a leguminosa estaria entre 70 e 100%, considerando-se ou não o "valor B" (Shearer e Kohl, 1980; Turner e Bergensen, 1980; Eteele, 1983). Nesta mesma lavoura, a estimativa da contribuição da FBN para a cana-de-açúcar (+5,33‰) variou entre 32,12% e 49,6%, de acordo com espécie de planta considerada como testemunha (Tabela 06). Este resultado evidencia dois pontos importantes - (i) A técnica de abundância natural de ^{15}N é adequada para a detecção de lavouras em que plantas cultivadas recebem contribuições via FBN, em sistemas agrícolas, pela possibilidade da distinção das fontes de N (ar 0 ‰) e o solo (geralmente com valores de $\delta^{15}\text{N}$ significativamente maiores que 0 ‰); (ii) A diferença entre os valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre as plantas teste (por exemplo, cana-de-açúcar) e o N-disponível no solo ($\delta^{15}\text{N}$ das plantas testemunhas) é mais importante para que se identifique a contribuição da FBN para a cana-de-açúcar pela técnica de $\delta^{15}\text{N}$ é que os valores observados de $\delta^{15}\text{N}$ nas plantas de

principalmente em regiões tropicais (Shearer e Kohl, 1992). Assim sendo, estes resultados corroboram os de Rennie e Rennie (1983) que observaram correlação significativa e positiva entre os valores de $\delta^{15}\text{N}$ observados nas plantas testemunhas e no solo. Além disso, as plantas testemunhas podem representar um valor de $\delta^{15}\text{N}$ equivalente à média ponderada das diferentes frações do N-disponível no solo para as plantas, durante o período de cultivo e ainda corrigem o fracionamento isotópico que pode ocorrer durante a assimilação do N do solo pela planta, caso ocorra, evidenciando importantes vantagens desta técnica em relação a outras de grande aplicabilidade, como a diluição isotópica de ^{15}N (Shearer e Kohl, 1986, Bremer e Van Kessel, 1990).

O procedimento de amostragem deve ter, além da utilização do maior número de plantas testemunhas que pertençam a diferentes famílias botânicas, o objetivo de identificar plantas no campo que mais se assemelham à planta teste (cana-de-açúcar) em relação ao volume de solo explorado (principalmente em profundidade), ciclo de vida (tempo de permanência no campo), similaridades na forma de obtenção do N do solo, associações micorrízicas, entre outros. Neste sentido, plantas de mesma família que a cana-de-açúcar (Gramineae), que não apresentem evidências científicas de receberem contribuição da FBN, podem ser as mais adequadas como plantas testemunhas para a estimativa da contribuição das FBN para a cana-de-açúcar, como as espécies *Panicum maximum* (Capim-Colonião) e *Eleusine indica* (Capim-pé-de-galinha), avaliada em diferentes lavouras neste estudo (Tabela 06).

Outro fator importante que pode limitar a aplicabilidade desta técnica para a estimativa da contribuição da FBN em sistemas agrícolas é o efeito da adição de N-fertilizantes na abundância de ^{15}N disponível no solo, e conseqüentemente, no valor de $\delta^{15}\text{N}$ na planta teste e nas plantas testemunhas. Atualmente, não existe um consenso em relação a este fator, pois muitos cientistas consideram impossível a aplicação desta técnica em sistemas agrícolas para a detecção de sítios de FBN e a sua quantificação, com a justificativa baseada em resultados que demonstram o efeito da abundância de ^{15}N do fertilizante (aproximadamente 0‰) no valor de $\delta^{15}\text{N}$ nas plantas testadas, podendo haver superestimativas da contribuição da FBN para as plantas (Feigin, et al.,

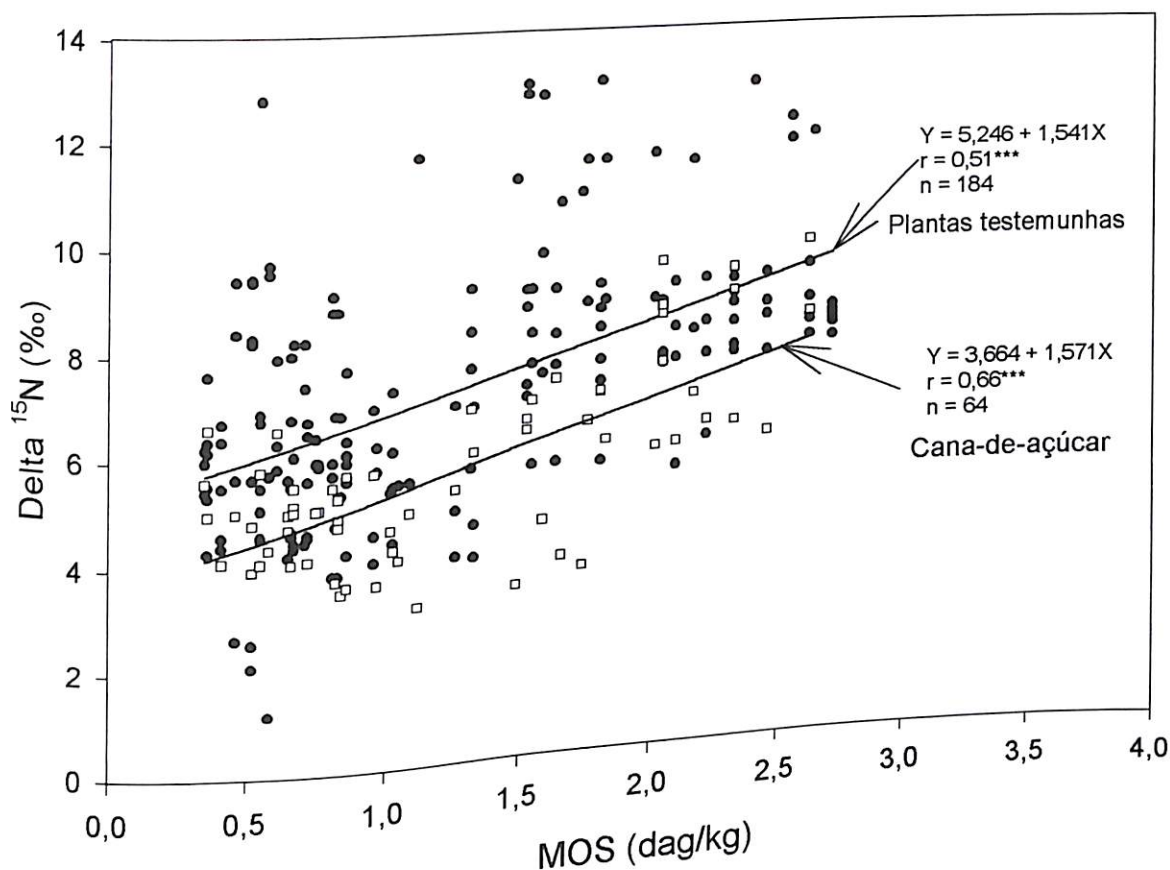


Figura 03 – Abundância natural de ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$) nas plantas testemunhas e na cana-de-açúcar em função do teor de matéria orgânica do solo, em todas as lavouras avaliadas neste estudo.

1974; Meints et al., 1975; Biggs, 2001). Entretanto, Domenach e Corman (1984) não detectaram variações nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ nas plantas testemunhas com a adição de N-fertilizante de doses equivalentes a até 90 kg/ha de N. Adição de elevadas doses de N mineral nos solos, principalmente aqueles com baixos teores de MOS, potencialmente tornaria inaplicável a técnica para a estimativa da FBN, por causar depleção do $\delta^{15}\text{N}$ nas plantas teste pela absorção do N-fertilizante diretamente, quando há elevada eficiência da recuperação deste fertilizante. Por outro lado, aplicações de baixas doses de N (até 60 kg/ha), como ocorre em determinadas culturas, pode causar um efeito na dinâmica do N da matéria orgânica do solo, conhecido como “efeito priming”, que segundo diversos autores podem até elevar o valor de $\delta^{15}\text{N}$ da fração disponível no solo pela mineralização de N da matéria orgânica do solo (Doughton, 1991 e 1995).

Na cana-de-açúcar cultivada no Brasil, a dose média de N-fertilizante aplicada equivale a 50 kg/ha, e esta prática só é recomendada a partir do segundo ciclo da cultura (socarias). Neste estudo, a estimativa da contribuição da FBN foi semelhante tanto para o primeiro ciclo (cana-planta) quanto para os ciclos seguintes (socarias) da cultura, pois

não houve efeito do ciclo da cultura ($p > 0,10$) (Lavoura 20 e 33, cana-planta); (lavoura 19 e 28, socaria) na estimativa da contribuição da FBN, demonstrando que neste estudo não há evidências de que a aplicação de N-fertilizantes afetou a estimativa da contribuição da FBN, por esta técnica. Além disso, mesmo em lavouras em que a dose de N aplicada foi de 100 kg/ha (lavouras 17, 18, 29, 30 e 31) (Tabela 02), não se evidenciou superestimativa da contribuição da FBN para a cana-de-açúcar, ocasionada pelo baixo valor de $\delta^{15}\text{N}$ do N-fertilizante ($\sim 0\text{‰}$), uma vez que nas lavouras 29, 30 e 31 a contribuição da FBN foi baixa ou não significativa, ou seja os valores de $\delta^{15}\text{N}$ não se diferenciaram entre os dois grupos de plantas (Tabela 06).

Entretanto, deve-se considerar a eficiência de aproveitamento do N-fertilizante pelas plantas de cana-de-açúcar, uma vez que em algumas lavouras que receberam elevada aplicação de N-fertilizante (100 kg/ha), estimou-se significativas contribuições da FBN para a cana-de-açúcar (Lavouras 17, 18, 21, 27 e 28, por exemplo) (Tabela 06), pois nesta lavoura o valor de $\delta^{15}\text{N}$ das plantas poderia ter sido afetado pela aplicação do N-fertilizante. Além disso, aplicações de elevadas doses de N-fertilizante podem inibir o processo de FBN associado às plantas, e portanto devem ser considerados na interpretação dos resultados expostos neste estudo (Tabela 06). Considerando-se que o N-fertilizante apresenta valor de $\delta^{15}\text{N}$ aproximadamente igual a zero ($\sim 0\text{‰}$), e que a eficiência de aproveitamento deste fertilizante pela planta em torno de 50%, e as plantas de cana-de-açúcar acumulassem 100 kg/ha de N, a aplicação da dose de 150 kg/ha de N, poderia estar superestimando a contribuição da FBN em 25 a 50% nas lavouras 17, e 28, por exemplo (Tabela 06). No entanto, o uso de diversas espécies de plantas como testemunha nestas lavouras, nas quais este efeito do N-fertilizante também seria inerente, evidencia-se como uma estratégia adequada para se estimar os valores e as variações do $\delta^{15}\text{N}$ no solo durante o ciclo cultural da cana-de-açúcar, como proposto por Boddey et al. (2001).

As estimativas da contribuição da FBN para a cana-de-açúcar variaram entre as lavouras amostradas e dentro das mesmas, de acordo com a espécie de planta utilizada como testemunha (Tabela 06). Estas variações dentro de cada lavoura, implicam, além de outros fatores, que o caráter da estimativa da FBN pela técnica de $\delta^{15}\text{N}$ pode ser apenas semi-quantitativo, como citado por Shearer e Kohl (1978), mas que pode tornar-se quantitativo com o aumento do número de espécies testemunhas avaliadas, com consequente diminuição da variabilidade dos valores de contribuição da FBN para as

plantas. Neste estudo, o uso de mais de duas espécies de plantas testemunhas propiciou estimativas consideravelmente seguras em seu caráter quantitativo da contribuição da FBN para a cana-de-açúcar (Tabela 06).

Ao considerarem-se todas as lavouras em que houve avaliação da contribuição da FBN para a cana-de-açúcar, excetuando-se a lavoura 39 (valores de $\delta^{15}\text{N}$ na cana-de-açúcar maior que nas plantas testemunhas), observou-se que, em média, a cultura da cana-de-açúcar recebeu, na safra avaliada, contribuição média da FBN em 28,3% do total de N acumulado pelas plantas, que variou de zero a 71,6% em função da lavoura em estudo e da espécie de planta utilizada como testemunha (Tabela 06). A estimativa da contribuição da FBN neste estudo pode ser reforçada quando se considera a diferença dos valores estimada de $\delta^{15}\text{N}$ nas plantas testemunhas e na cana-de-açúcar pelas equações dos modelos de regressão ajustados com a MOS sendo considerada como variável independente (Figura 03), pois esta diferença possivelmente evidencia dois fatores importantes. Primeiramente, a igualdade dos coeficientes angular das equações das retas ($p > 0,10$) indica que as plantas testemunhas e a cana-de-açúcar, de uma maneira geral, podem estar acessando "pools" do N "nativo" dos solos homogêneos quanto à abundância natural de ^{15}N (Figura 03). Adicionalmente, as diferenças nos coeficientes lineares das duas equações (intercepto $\delta^{15}\text{N} = 3,66\text{‰}$ e $5,25\text{‰}$ para cana-de-açúcar e plantas testemunhas, respectivamente) das retas indicam que a cana de açúcar esteja acessando outra fonte de N para a acumulação em sua biomassa, que ao nível do conhecimento científico atual, é o processo de FBN. Utilizando-se este procedimento de cálculo, a contribuição média da FBN na cana-de-açúcar nas lavouras amostradas foi de 30,3%, valor bastante próximo ao observado anteriormente pelo cálculo da média entre as lavouras (Tabela 06).

Considerando-se que a cultura da cana-de-açúcar no Brasil acumule em média 100 kg/ha de N (Orlando Filho, 1983), a área plantada com cana-de-açúcar sendo 4,9 milhões de hectares (Sidra – IBGE, 2001), a quantidade de N acumulado pela cultura proveniente do processo de FBN no País pode ser estimada em 147.000 Mg de N, o que equivaleria a aproximadamente 300.000 Mg de uréia fertilizante. Utilizando-se estes valores, a cada unidade percentual que se aumente na contribuição média do processo de FBN para a nutrição nitrogenada desta cultura, significa uma economia de N-fertilizante em torno de 3.000 Mg de uréia, que equivale a 1,80 milhão de dólares.

A elevação da contribuição do processo de FBN para a cana-de-açúcar é essencialmente dependente de adoção de estratégias de manejo que estimulem ou otimizem os fatores que influenciam a associação entre as plantas de cana-de-açúcar e as bactérias diazotróficas, o que será gerado através de desenvolvimento de conhecimentos em diversas áreas, tais como genética e melhoramento vegetal, ecofisiologia das bactérias diazotróficas associadas à planta de cana-de-açúcar, nutrição nitrogenada das plantas, entre outros. Ao nível do campo, os principais fatores que podem elevar esta contribuição são a escolha de variedades de cana-de-açúcar potencialmente mais eficientes para o processo de FBN, pois Urquiaga et al. (1992) observaram que existem grandes diferenças entre as variedades comerciais do Brasil quanto a esta característica. Além da otimização do estado nutricional das plantas de cana-de-açúcar, principalmente naqueles nutrientes minerais que influenciam diretamente o processo de FBN, tais como fósforo, micronutrientes, principalmente o Mo, e o N-mineral, será necessário investimento em estudos biotecnológicos como micropropagação das plantas, produção de inoculantes, e ecofisiologia do mutualismo planta/bactérias.

3.3.2 INFLUÊNCIA DAS VARIEDADES E DO MANEJO DA NUTRIÇÃO MINERAL DAS LAVOURAS NA CONTRIBUIÇÃO DA FBN NA CANA-DE-AÇÚCAR

Os resultados obtidos até o momento pela pesquisa indicam que o potencial para a FBN é diferenciado entre as variedades cultivadas (genótipo da planta), como demonstrado por Lima et al., (1987) e Urquiaga et al. (1992). Estes últimos autores apontaram variedades de cana-de-açúcar tais como SP 70 1143 e CB 45-3 como sendo de elevado potencial de associação mutualista com bactérias diazotróficas, pois foram as que mais receberam contribuições deste processo, em condições otimizadas de manejo da lavoura, apesar de as demais variedades comerciais híbridas, bem como a espécie selvagem *Saccharum barberi* (Chunee) consideradas apresentarem baixo potencial para a FBN, apresentaram a mesma diversidade e quantidade de bactérias diazotróficas como demonstrado posteriormente por Reis Jr. et al. (1998). Neste estudo, as duas variedades foram avaliadas e apresentaram em algumas lavouras contribuições significativas do processo de FBN, que variaram de zero a 60% do total de N acumulado pelas plantas, confirmando o potencial destas variedades para a FBN, mesmo ao nível do campo.

Entretanto, a variação da contribuição da FBN, principalmente para a variedade CB 45-3 (Tabela 06) entre as lavouras indica que, de alguma maneira, o manejo da lavoura afetou o caráter mutualista da associação das bactérias diazotróficas e a planta de cana-de-açúcar.

A variedade CB 45-3 foi avaliada em lavouras que apresentavam classes de solo com características químicas e físicas semelhantes (lavouras 01 e 39, Tabela 05), no entanto, na estação experimental da UFRRJ, esta variedade apresentou contribuição significativa da FBN (Tabela 06) e em Minas Gerais, a contribuição não foi significativa, mesmo em primeiro ciclo de cultivo (cana-planta), onde se espera maiores contribuições da FBN para as plantas (Azeredo et al. 1986). As únicas diferenças no manejo destas duas lavouras se observou no uso da irrigação e aplicação de micronutrientes (FTE BR-12) na lavoura 01 (Tabela 02). O solo observado na lavoura 39 pertence à classe Latossolo vermelho amarelo, cujo material de origem é o gnaisse, o qual é descrito como pobre em elementos como o Mo. Aliado a isso, o elevado teor de argila (510 g/kg) e MOS em condições de baixo pH (4,45) podem ainda elevar a possibilidade de ocorrência de baixa disponibilidade de Mo, pois as elevadas capacidades de troca aniônicas deste solo, nestas condições diminuiriam o teor deste nutriente na solução do solo.

Os programas de melhoramento de plantas para esta cultura no Brasil são responsáveis pelo lançamento contínuo de novas variedades que apresentam vantagens agronômicas e industrial. Nos últimos anos as variedades CB 45-3 e SP 701143 foram substituídas por variedades como a variedade RB 72454 e SP 801842, cultivadas em mais de 30% da área plantada com cana-de-açúcar no País (Coopersucar, 2000). Ambas as variedades foram avaliadas neste estudo, sendo que a RB 72 454 apresentou contribuições significativas do processo de FBN em todas as áreas avaliadas, que variaram entre 25 e 70% (lavouras 02, 03, 18, 19, 28 e 36).

Resende (2000) observou que contribuição da FBN nesta variedade, cultivada em solo com baixa concentração de N ($<0,10$ g/kg), através da técnica de $\delta^{15}\text{N}$, e estimou que cerca de 50% do total de N-acumulado pela planta foi proveniente deste processo. As corroborações destes resultados aos encontrados no presente estudo demonstram que esta variedade realmente apresenta elevado potencial para FBN, principalmente em solos de baixa fertilidade natural para o N. Ressalta-se que as condições do trabalho de Resende (2000), o único nutriente limitante às plantas foi o N,

uma vez que nas condições experimentais avaliadas, houve correção da fertilidade do solo para os outros nutrientes, inclusive micronutrientes, e aplicou-se a irrigação.

A variedade SP 801842 obteve contribuição da FBN, neste estudo, entre zero (não significativa diferença entre $\delta^{15}\text{N}$ das plantas de cana-de-açúcar e as testemunhas) a 50% (lavouras 17, 20, 31, 33 e 37) implicando que esta variedade também apresenta potencial para a FBN. Ambas as variedades não apresentaram evidências claras de que o ciclo cultural influenciou a contribuição da FBN para as plantas. No entanto, Azeredo et al. (1986) ao avaliar 139 lavouras de cana-de-açúcar em primeiro ciclo cultural (cana-planta) quanto à aplicação de N-fertilizante, descreveu que apenas 19% das lavouras estudadas apresentaram resposta significativa na produtividade de colmos, e todas estas se encontravam cultivadas em solos da classe cambissolo. Os autores ressaltam ainda que a resposta ao N-fertilizante poderia estar associada a limitações nas características físicas destes solos nestas lavouras, principalmente impedindo o desenvolvimento adequado do sistema radicular, diminuindo a capacidade de exploração do N "nativo do solo" com conseqüente resposta à aplicação de N-fertilizante.

No entanto, ao avaliarmos a contribuição da FBN para a variedade SP 801842 cultivada em primeiro ciclo cultural (cana-planta) nas lavouras 20 e 35, que variou entre 45% e zero, respectivamente, as quais foram cultivadas em solos da classe Latossolo Roxo e Latossolo Vermelho amarelo, respectivamente (Tabelas 01 e 02). Estas classes de solo naturalmente apresentam estrutura física bastante desenvolvida, principalmente com elevados teores de argila, sendo que diferenças entre elas são encontradas nas características químicas, principalmente pelas propriedades do material de origem dos mesmos, com conseqüente diferença na fertilidade natural destes solos (Tabelas 04 e 05). Entretanto, de acordo com a Tabela 02 em todas as lavouras amostradas foi feita a correção da fertilidade do solo, de acordo com as recomendações técnicas para cada região. Esta recomendação, principalmente da adubação de manutenção da lavoura, não inclui a aplicação de micronutrientes, sendo reservado à aplicação de torta de filtro e à fertilidade natural destes nutrientes do solo a nutrição das plantas destes elementos. Como um dos principais fatores que implicam na fertilidade natural dos solos é o material de origem, em solos cujas rochas de origem apresentam baixa concentração de micronutrientes, é possível que os mesmos possam estar limitando a produtividade da cana-de-açúcar. Entre os micronutrientes, o Mo influencia diretamente a contribuição da FBN para as plantas (Shah et al. 1981; Gupta, 1997), e diversos estudos demonstraram em culturas que a contribuição da FBN para as plantas pode ser limitada pelo

fornecimento inadequado de Mo (Vieira et al, 1998; Franco et al., 1981; Urquiaga et al., 1996; Polidoro 1997; Gupta et al., 1997).

Na cultura da cana-de-açúcar no Brasil não se recomenda aplicação de fontes deste micronutriente, apesar de Urquiaga et al. (1996) terem demonstrado que a aplicação de Mo em lavouras que não receberam N-fertilizante apresentaram até 20% de aumento de produtividade pela aplicação de Mo. Sendo assim, a principal fonte deste micronutriente para a cana-de-açúcar é o proveniente da fertilidade natural do solo, que segundo Bataglia et al. (1971), é fortemente influenciada pelo material de origem dos solos. Nas lavouras 20 e 33, o material de origem dos solos é o basalto e o gnaiss, respectivamente, que se diferenciam marcadamente quanto ao conteúdo de Mo em sua estrutura, podendo ter afetado a fertilidade do solo para este micronutriente (Kabata-Pendias, 1982). Portanto, um dos fatores que podem estar limitando a contribuição da FBN para a cultura da cana-de-açúcar nas lavouras estudadas pode ser a inadequada nutrição molibdica pela planta, ocasionada pela não recomendação da aplicação de fontes deste micronutriente aliada à baixa disponibilidade nos solos destas lavouras.

Nas lavouras avaliadas no Estado de Minas Gerais, o material de origem dos solos é a rocha gnaiss, e reforça a hipótese de que o Mo pode estar limitando a contribuição da FBN para esta cultura nestas lavouras, uma vez que apenas três das lavouras (32, 35 e 36) apresentaram contribuições significativas, porém limitadas quando se considera o potencial da variedade, deste processo (Tabela 06). Lavouras localizadas no Estado de São Paulo (21, 22, Tabela 06) cujas contribuições da FBN foram consideradas insignificantes, também apresentam material de origem pobre em Mo (arenitos), cujas classes de solo (areias quartzosas) podem apresentar baixa disponibilidade deste micronutriente para as plantas.

3.3.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados observados neste estudo demonstram que o uso da técnica de abundância natural de ^{15}N (delta ^{15}N) foi sensível e mostrou-se adequada para a quantificação da contribuição da FBN na cultura da cana-de-açúcar cultivada no Brasil, e possivelmente em outros sistemas agrícolas cuja lavoura não receba aplicação de elevadas doses de N-fertilizante. Contudo, a estratégia de utilização de plantas de ocorrência natural na lavoura que não apresentam evidências científicas de receberem contribuições do processo de FBN para a sua nutrição nitrogenada, provavelmente, é a

melhor estratégia para quantificar o valor do $\delta^{15}\text{N}$ disponível no solo para as plantas, sendo imprescindível o uso do maior e mais diverso número de espécies e famílias botânicas, principalmente da família gramineae. Nesta família excetua-se o gênero *Brachiaria* por ter apresentado neste estudo, potencial para receber contribuições significativas da FBN nas lavouras estudadas, confirmando os resultados observados por Boddey e Victória (1986) para este gênero de planta.

A aplicação de N-mineral nas lavouras, possivelmente não inviabiliza a aplicação da técnica de delta ^{15}N na estimativa da FBN associada à cultura da cana-de-açúcar, visto que não houve evidência de superestimativas deste processo nas lavouras avaliadas, bem como o valor de $\delta^{15}\text{N}$ apresentado tanto pelas plantas testemunhas como a cana-de-açúcar foram significativamente influenciados pela MOS. Entretanto, aplicações de elevadas doses de N, em lavouras onde as plantas apresentem elevada eficiência na recuperação do N-fertilizante, poderia inviabilizar a aplicação da técnica, primeiramente pelo baixo valor do $\delta^{15}\text{N}$ no N-fertilizante ($\sim 0\text{‰}$) que seria uma fonte de N confundida com o N proveniente do processo de FBN, que poderia superestimar a contribuição da FBN, e também pelo efeito inibitório sobre o processo de FBN nas bactérias associadas às plantas, ocasionado pelo N-mineral aplicado ao solo e absorvido pelas plantas.

As variedades comerciais de cana-de-açúcar RB 72454 e SP 801842 apresentaram elevado potencial para a FBN nas lavouras amostradas, no entanto, o manejo da fertilidade do solo e a nutrição das plantas apresentaram tendência de influenciar na magnitude da contribuição, sendo necessário o monitoramento do estado nutricional das plantas, principalmente micronutrientes, pois os mesmos, em via de regra, não são aplicados nas lavouras comerciais da cultura da cana-de-açúcar. Dentre os micronutrientes, a limitação na nutrição molibídica pode ser a mais importante pelo seu papel nos processos envolvidos na nutrição nitrogenada das plantas de cana-de-açúcar.

3.4 CONCLUSÕES

- 1 - A técnica da abundância natural de ^{15}N é adequada para a quantificação da contribuição do processo de FBN para a nutrição nitrogenada de plantas de cana-de-açúcar cultivadas em lavouras comerciais no Brasil.
- 2 - A estimativa do valor de $\delta^{15}\text{N}$ da fração disponível do solo através de sua determinação em plantas de ocorrência natural nas lavouras (invasoras), que não apresentam comprovação científica de terem o processo de FBN associado a sua nutrição nitrogenada, é adequada e promissora para a aplicação da técnica de $\delta^{15}\text{N}$ para quantificação deste processo em sistemas agrícolas.
- 3 - Estimada por esta técnica, a contribuição do processo de FBN para a nutrição nitrogenada da cultura da cana-de-açúcar, nas lavouras comerciais do Brasil, varia entre zero (0%) a 70%, com média de 32%.
- 4 - As variedades comerciais CB 45-3, SP 80 1842 e, principalmente a RB 72 454, apresentaram maior potencial para a associação mutualista com as bactérias diazotróficas, na realização do processo de FBN.
- 5 - O manejo da fertilidade do solo equilibrando o estado nutricional das plantas, possivelmente é o principal fator para a otimização da contribuição da FBN associada a estas variedades com potencial de mutualismo com bactérias diazotróficas. Uma vez que quando cultivada em solos com limitação da fertilidade, a contribuição deste processo para a nutrição nitrogenada das plantas não foi significativa.

4 **CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA NUTRIÇÃO
MOLÍBDICA NA PRODUTIVIDADE, NUTRIÇÃO
NITROGENADA E NA CONTRIBUIÇÃO DA FBN
ASSOCIADA À CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR**

4.1 INTRODUÇÃO

Os estudos que objetivam estabelecer procedimentos analíticos para determinação de Mo no sistema solo/planta, principalmente na agricultura, foram iniciados nas décadas de 30 e 40 desde as primeiras descobertas da importância do Mo para a produtividade destes sistemas biológicos (Arnon e Stout, 1939; Bortles, 1936, Mulder, 1948). No entanto, a baixa concentração do Mo nestes sistemas e sua natureza química diferenciada dos outros micronutrientes, fazem com que as técnicas tradicionais adotadas na pesquisa para determinação de nutrientes não se adequem para a avaliação do Mo em plantas e no solo, e por isso, ainda sejam os principais fatores que prejudicam o desenvolvimento de práticas de manejo da nutrição molibídica em sistemas agrícolas. Em culturas agrícolas como a cana-de-açúcar na qual espera-se que as concentrações de Mo limitantes para as plantas estejam abaixo de 0,20 mg/kg, este aspecto metodológico torna-se ainda mais crítico.

A escolha do método de análise de um elemento deve basear-se na possibilidade de instrumentação, exatidão e precisão, reprodutibilidade, sensibilidade de detecção e especificidade, além da facilidade de execução do procedimento analítico (Alvarez V., 1988). Em plantas, diversos procedimentos analíticos são propostos para a determinação de Mo, sendo inicialmente os mais utilizados as técnicas de determinação espectrofotométrica tal como a "Tiocianato-Mo" - $[\text{FeMoO}(\text{SCN})_5]$ - proposto por Evans et al. (1965) e a do "Ditiol-Mo", descrito por Gupta e MacKey (1965). Entretanto, estes dois métodos envolvem em seu procedimento o uso de extratores orgânicos tóxicos aos homens, e elevada manipulação das amostras, tornando tanto a precisão quanto a exatidão de ambos os métodos inconsistentes quando a concentração de crítica de Mo nas plantas é abaixo de 0,2 mg/kg.

Alternativamente a estes métodos, Yatzmirskii (1964) propôs uma técnica cujo procedimento utiliza-se da determinação cinética do Mo com base na sua ação catalítica na reação entre iodeto de potássio (KI) com o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em meio ácido. Esta técnica é utilizada por diversos autores para a determinação de Mo tanto em extratos de plantas quanto de solo, e ao menos para plantas, não apresenta as desvantagens das técnicas citadas anteriormente no que diz respeito ao limite mínimo de detecção e à manipulação das amostras analisadas (Eivazi e Sims, 1997).

O desenvolvimento de instrumentos como o forno de grafite acoplado ao espectrômetro de absorção atômica (GF-AAS) (Butler e Mathews, 1996) dos aparelhos de detecção elementar em espectrômetro de emissão direta de plasma (DCP-MAES) (Pierzinsky et al., 1986) ou emissão de plasma induzida (ICP-AES) (Havlim e Soltanpour, 1980) são promissores para o desenvolvimento de procedimentos analíticos para a detecção de Mo, pois a detecção é relativamente rápida, multielementar, podendo, no entanto, serem sujeitos a forte influência da matriz iônica no extrato da amostra analisada (Sims e Eivazi, 1997).

Estas técnicas de detecção de Mo também são adotadas para a análise de solos, no entanto, a este método adiciona-se a problemática de escolha de um extrator que permita extrair para a solução quantidades de Mo que se relacionem com a disponibilidade para as plantas. Teoricamente, a melhor maneira de se estimar a disponibilidade de um nutriente no solo seria a utilização de extratores que extraíam quantidades relativas ao que é utilizado pelo organismo (planta ou microrganismos do solo), e, nesse foco, o melhor extrator seria o próprio organismo. Entretanto, a pesquisa busca a escolha de substâncias químicas que simulem, ou "imitem" a ação extratora dos organismos no solo, para que se possa prever a disponibilidade de um nutriente no solo através de análises químicas em laboratório. No entanto, o uso de extratores químicos implica na diluição do teor do nutriente na solução que será determinado, que especialmente para o Mo, inviabiliza a sua detecção em solos com baixa disponibilidade deste micronutriente (Mordvet, 1991).

O uso de extratores biológicos (bio-indicadores) pode ser adequado para o Mo, uma vez que este elemento realiza funções altamente específicas dentro do metabolismo celular, sendo, portanto, extraído de forma específica pelo organismo. Franco et al., (1978) comprovaram a possibilidade de utilização de bactérias diazotróficas de vida livre e associativas, tais como *Azotobacter paspali*, *A. chorococcum*, *Azospirillum*, como bio-indicadores da disponibilidade de Mo no solo.

Este trabalho teve como objetivos:

- (1) avaliar a técnica colorimétrica do Iodeto-Peróxido, e as técnicas espectrofotométricas utilizando-se do plasma (DCP e ICP-AES) quanto ao poder de detecção de Mo em tecidos de plantas de cana-de-açúcar;
- (2) avaliar a utilização de *Azotobacter paspali* para a detecção de condições limitantes de disponibilidade de Mo em amostras de solos cultivados com cana-de-açúcar.
- (3) avaliar a nutrição molíbdica da cultura da cana-de-açúcar e sua influência na contribuição da FBN para a nutrição nitrogenada e produtividade na cultura da cana-de-açúcar

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 DETERMINAÇÃO DE Mo EM EXTRATO DE TECIDO DE FOLHAS DE CANA-DE-AÇÚCAR.

A determinação do teor de Molibdênio foi realizada em amostras de tecido vegetal de folhas de cana-de-açúcar através da aplicação de três diferentes técnicas analíticas: i) Espectrofotometria de absorção molecular da catálise do Mo na reação entre o iodeto de potássio e peróxido de hidrogênio, em meio ácido, como proposto por Dallpiai, (1997) e Fontes et al. (2000); ii) Espectrometria em sistema de emissão de plasma por indução acoplada (ICP-EAS) (Sharp, 1990) e iii) Espectrometria em sistema de emissão de plasma direta (DCP-MEAS) (Havlim e Soltanpour, 1980).

As amostras de folhas de plantas de cana-de-açúcar foram obtidas em lavouras comerciais situadas nas principais regiões produtoras do Brasil. A folha amostrada na planta foi a primeira considerada em estágio de completo desenvolvimento e maturidade fisiológico, denominada "folha +3" (Gallo, 1970), que apresenta concentrações dos nutrientes que refletem o estado nutricional da planta (Orlando Filho, 1985). Cada área amostrada ("lavoura") foi estratificada em quatro parcelas com área de 2000 m², dentro das quais foram coletadas 30 folhas. Nestas folhas retirou-se a nervura central, aproveitando-se apenas o terço médio do limbo foliar. As amostras foram lavadas em detergente neutro, enxaguadas em água deionizada (resistividade >5,0 Mhon's/cm²) e acondicionadas em estufa com ventilação forçada à temperatura de 65°C, por 72 horas, até a obtenção de peso constante. As amostras secas foram passadas por moinho tipo Wiley, com peneira de 40 mesh.

O molibdênio foi mineralizado por digestão nítrico-perclórica, em um grama de material vegetal. Para a mineralização foram adicionados sete mililitros de ácido nítrico

(HNO₃) às amostras acondicionadas em tubos para digestão ácida e deixadas em repouso pelo período de 12 a 16 horas. Após este período, o material foi levado ao bloco digestor, em câmara com exaustão de gases, à temperatura de 80°C, por uma hora. O material foi resfriado até temperatura ambiente e adicionado de três mililitros de ácido perclórico (HClO₄, p.a), elevada a temperatura gradualmente à 200°C, até completa mineralização do Mo. O resíduo mineral teve o volume completado até 25 mL com água ultrapura (18,3 Mhom's/cm² de resistividade) em balão volumétrico e acondicionados, para posterior análise. A determinação do Mo pelas três técnicas foi realizada no mesmo extrato mineralizado.

4.2.2 DETERMINAÇÃO DO Mo PELO MÉTODO DO IODETO DE POTÁSSIO

Os extratos das amostras mineralizadas foram preparados para que todas as amostras apresentassem o mesmo valor de concentração hidrogeniônica (pH). Para isso, 10 mL de cada extrato foram evaporados em chapa quente à temperatura de ~200°C, e posteriormente, adicionados de 10 mL de ácido clorídrico 0,15 mol.L⁻¹.

As soluções utilizadas para a determinação do Mo foram preparadas utilizando-se água pura (18,3 Mhom's/cm²). Os reagentes utilizados apresentaram características químicas de elevada pureza, para análises de laboratório (p. a.). As concentrações das soluções foram determinadas de acordo com Dallpai (1997) e Fontes et al. (2000), preparadas diariamente (Quadro 04).

Quadro 04 – Soluções e reagentes utilizados para a determinação de Mo em extrato vegetal ácido pelo método do iodeto de potássio (Yatzimirskii, 1964), com modificações.

Solução	Concentração	Reagentes
Iodeto de Potássio	0,25% (m/v)	KI
Peróxido de Hidrogênio	0,02% (v/v), uma gota tritox 100X	H ₂ O ₂ (30%), Triton 100X
Fluoreto de amônio	0,25% (v/v), uma gota de Triton 100X	NH ₄ F (40%), Triton 100X
Ácido clorídrico	0,150 mol.L ⁻¹	HCl (37%)
Estoque de Molibdênio	500 mg.L ⁻¹	MoO ₃ , NH ₄ (OH) (40%)

A determinação do Mo foi realizada em espectrofotômetro marca SHIMADZU, modelo. UV/VIS 1023, através de injeção da solução de leitura em fluxo, com a leitura da absorção luminosa em comprimento de onda de 420 nm (Eivazi, 1988).

A relação da absorção molecular da reação do iodeto de potássio com o peróxido de hidrogênio e a concentração de Mo na solução, foi determinada pela confecção da curva padrão cujas concentrações de Mo na solução de leitura variaram entre zero e 300 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de Mo. A reação na solução de leitura ocorreu pela adição de três mililitros de solução padrão da curva de leitura¹, adicionada de um mililitro de solução de NH_4F , um mililitro de solução de H_2O_2 e um mililitro de solução de KI, rigorosamente nesta ordem de adição, acondicionadas em tubos de ensaio com capacidade de 12 mL de volume. A leitura da absorção molecular das soluções (absorbância) foi determinada exatamente 10 minutos após a adição do último reagente (KI) para todas as soluções. Após a calibração da curva padrão, as amostras foram analisadas seguindo-se o mesmo procedimento, adicionando-se em lugar da solução padrão de Mo três mililitros de extrato das amostras de cana-de-açúcar, em HCl 0,15M.

4.2.3 DETERMINAÇÃO DE Mo POR ESPECTROMETRIA EM SISTEMA DE EMISSÃO ATÔMICA DE PLASMA POR INDUÇÃO ACOPLADA (ICP-EAS).

Os extratos mineralizados das folhas de cana-de-açúcar em meio ácido nítrico-perclórico foram utilizados para a determinação direta do teor de Molibdênio no laboratório de análises de solos e plantas do Centro Nacional de Pesquisa em Solos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (CNPS – Embrapa), em aparelho ICP-EAS, marca Perkin-Elmer, como proposto por Pierzinsky et al., (1986). O aparelho foi calibrado através da leitura de curva padrão, contendo Mo em concentrações que variaram entre zero e 0,5 mg/L de solução preparada em mistura nítrico-perclórica, nas mesmas proporções em que foram preparados os extratos de plantas mineralizados. A máxima emissão do elemento Mo foi observada no comprimento de onda de 202,03 nm, no qual o limite mínimo para a detecção do Mo foi o de 0,02 mg/L.

4.2.4 DETERMINAÇÃO DO Mo POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ATÔMICA DIRETA DE PLASMA (DCP-MEAS)

¹ Concentrações de Mo na solução padrão da curva de leitura: 0,0; 0,01; 0,03; 0,05; 0,07; 0,10; 0,12; 0,15; 0,20 e 0,30 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de solução, formuladas a partir de uma solução padrão concentrada com 1,00 mg.L⁻¹ de Mo; Todas as soluções foram preparadas em ácido clorídrico 0,15 mol.L⁻¹, padronizada.

Nesta técnica adotou-se o mesmo procedimento do item anterior, no qual o Mo foi determinado em aparelho Modelo DCP-MEAS da marca Shimadzu, realizado no Laboratório de Análises Minerais, do Departamento de Química Analítica, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro. A calibração do aparelho foi feita pela leitura de curva padrão com concentrações de Mo entre zero e 10 mg/kg. Nesta curva padrão realizou-se ajuste de matriz catiônica com adição de sais de Cálcio, Potássio e Sódio como proposto por Havlim e Soltanpour, (1980), para que a concentração destes íons permanecesse aproximadamente igual à dos extratos nítrico-perclóricos das amostras de cana-de-açúcar, para a minimização do efeito matriz catiônico no extrato. A máxima emissão do elemento Mo foi observada no comprimento de onda 379,28 nm, com limite mínimo de detecção em 0,02 mg/L

4.2.5 AVALIAÇÃO DA EXATIDÃO E PRECISÃO DAS TÉCNICAS DE DETECÇÃO DE Mo

A avaliação da exatidão das técnicas foi realizada pela determinação de Mo em extrato nítrico-perclórico de amostras certificadas de folhas de tomateiro (0,094 mg/kg de Mo) e de macieira (0,064 mg/kg de Mo) (NIST 1063 e NIST 1059, respectivamente), seguindo-se o mesmo procedimento adotado para as análises das plantas de cana-de-açúcar. Os valores das concentrações de Mo observados pela detecção nas diferentes técnicas foram comparados pelo teste "t-student" com a amostra padrão certificada e avaliada segundo a significância dos contrastes estabelecidos. Adicionalmente, realizou-se a determinação de Mo em amostras de extrato de cana-de-açúcar escolhidas aleatoriamente e adicionadas de concentrações conhecidas de solução padrão de Mo (técnica da adição de padrão), e testou-se a capacidade de recuperação do Mo pelas três técnicas avaliadas neste estudo.

A precisão dos métodos foi avaliada pela determinação do teor de Mo em extratos mineralizados das amostras cana-de-açúcar, em quatro repetições, das quais foi calculado o desvio padrão da média das repetições de cada amostra avaliada, e pelo coeficiente de determinação da curva padrão de cada técnica.

4.2.6 DETERMINAÇÃO DA BIO-DISPONIBILIDADE DE Mo EM SOLOS.

Determinou-se a bio-disponibilidade de Mo nas amostras de terra obtidas dos solos das lavouras de cana-de-açúcar, as quais foram as mesmas utilizadas para a

quantificação da contribuição da FBN na cana-de-açúcar no capítulo I. As amostras de terra fina seca ao ar (TFSA) foram passadas por peneira de um milímetro de diâmetro, das quais pesou-se 100 mg e acondicionou-se em frascos de vidro (tipo penicilina) com volume de 10 mL. Avaliou-se a bio-disponibilidade de Mo nestas amostras pela técnica proposta por Franco et al., (1979) como se segue:

"Meio de Cultura

A composição do meio de cultura por litro foi: cinco 5,0 g de CaCO_3 ; 20g de açúcar cristal de cana-de-açúcar (comercial); 0,05g de K_2HPO_4 ; 0,22g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,20g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,15g de KH_2PO_4 ; 0,01g de FeCl_3 e 5,0 mL de solução alcoólica de azul de bromotimol (0,5%). Como controle foram utilizados frascos de vidro com 10 mL de volume, contendo 2,0 mg/L de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Os frascos contendo 2,0 mL de meio de cultura foram vedados com rolhas de algodão e levados à autoclave para esterilização.

Microrganismos e Inóculo
Azotobacter paspali isolados da rizosfera de *Paspalum notatum* foram utilizados neste teste mas *A. chroococcum* pode igualmente ser utilizado. Para a preparação do inóculo, as os isolados foram crescidos em meio de cultura descrito acima mas sem adição de Mo, e com 27,8 mg/L de N na forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, por 24 horas à temperatura de 35°C.

Procedimento
 Frascos contendo triplicatas para cada amostra de solo contendo meio de cultura foram esterilizados e adicionados de 100 mg de solo. Uma gota de inóculo foi adicionada em cada frasco utilizando-se seringa hipodérmica descartável estéril. Após incubação de 24 horas a 35°C as rolhas de algodão foram substituídas por uma rolha de borracha impermeável e 10% do ar foram substituídos por acetileno. Os frascos foram incubados novamente a 35°C por uma hora. A produção de etileno foi medida pela injeção de 0,5 mL da mistura de gases em uma cromatógrafo a gás marca Perkin Elmer F-11 equipado com uma coluna Poropak N, com 0,03x2m, a 110°C. O gás carreador foi N_2 e a chama de ionização foi produzida pela combustão de H_2 . Os resultados foram expressos com o percentual de acréscimo da atividade de redução de acetileno (nmol/g/h de etileno evoluído) pela enzima nitrogenase nos frascos que continham Mo adicionado ao meio de cultura com a dos que não receberam Mo".

Ao procedimento descrito acima foram feitas modificações:
 A adição de 100 mg/frasco de amostras de solo foi feita anteriormente ao processo de autoclavagem do meio de cultura, sendo que os mesmos ao invés de serem avaliados em triplicata por amostra de solo foram feitas duplicatas, pois cada amostra de solo já representava uma das quatro repetições de cada lavoura amostrada. Nos meios de cultura inoculou-se 20,0 μL de cultura da bactéria diazotrófica *Azotobacter paspali* (Dobereiner, 1971) cuja concentração de células foi de 10^8 células/mL. Após incubação os frascos foram vedados com tampas de borracha impermeável e injetados com 0,7 mililitro de acetileno (10% do volume atmosférico dos frascos de vidro), e incubados por uma hora à mesma temperatura de crescimento. Posteriormente à incubação foi

retirado meio mililitro de ar interior ao frasco e injetados em cromatógrafo a gás modelo Perkim Elmmmer, com calibração como se segue: (Tabela 07).

Tabela 07. Calibração do cromatógrafo a gás, Perkim Elmmmer, integrador HP-Inject utilizados para medir a concentração de etileno e acetileno emitidos com a aplicação da técnica de Atividade de Redução de Acetileno (ARA)

	Cromatógrafo	Integrador
	10x16	16
Atenuação	0.91 minutos	0.91 minutos
Tempo de retenção de etileno	1000	1000
Nível linha de base	80°C	-
Temper. detector de ionização de chama	34-6°C	-
Temperatura da coluna	60°C	-
Temperatura do vaporizador	80 psi	-
Pressão de nitrogênio	60 psi	-
Pressão de ar sintético	60 psi	-
Pressão de hidrogênio		

As amostras de solo foram avaliadas separadamente por cada bloco (repetição) em cada lavoura, ou seja, em cada procedimento de análise encontrava-se a mesma repetição de cada uma das lavouras, para possibilitar as mesmas condições para cada amostra de solo na estimativa da atividade de redução de acetileno.

Os dados observados foram avaliados quanto a sua distribuição pelo teste de normalidade de Lillifors e de homogeneidade de variância dos erros pelos testes de Cochran e de Bartlett. Após verificação das condições de normalidade dos dados e homogeneidade da variância dos erros, procedeu-se a análise de variância para estimativa dos efeitos isolados e da interação entre Mo e a amostra de solo avaliada. Além destas avaliações procedeu-se a análise de correlação linear de Pearson e análise de regressão linear simples entre a disponibilidade de Mo no solo e a contribuição da FBN para as plantas de cana-de-açúcar, estimada no capítulo I.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 TEORES DE Mo EM FOLHAS DE CANA-DE-AÇÚCAR DETERMINADOS POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO DE PLASMA (ICP-EAS E DCP-MEAS) E ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR (KI-H₂O₂)

A estimativa dos teores de Mo nos extratos mineralizados das amostras de folhas de cana de açúcar nas 48 lavouras avaliadas foi significativamente influenciada pelas técnicas utilizadas neste estudo (Tabela 08). As técnicas do DCP e KI-H₂O₂ apresentaram detecção do Mo em todas as amostras de folhas de cana-de-açúcar em todas as lavouras, exceto a lavoura 43, para a técnica do KI-H₂O₂ (Tabela 08). Entretanto, os valores estimados pela técnica do DCP variaram entre $1,16 \pm 0,67$ a $8,31 \pm 1,82$ mg/kg de Mo, em média 10 vezes maior que o estimado pela técnica do KI-H₂O₂ que variou entre $0,13 \pm 0,01$ a $1,82 \pm 0,19$ (Tabela 08).

A detecção de Mo pela técnica de ICP-AES apresentou teores relacionados com os observados pela técnica do KI-H₂O₂, no entanto em amostras com teores baixos de Mo ($< 0,28 \pm 0,02$ mg/kg de Mo) não foi observada detecção, caracterizando menor sensibilidade desta técnica em relação às outras duas avaliadas. Considerando que os teores de Mo observados por diversos autores em plantas, principalmente da família gramíneas, variaram entre 0,10 a 2,0 mg/kg de Mo (Gupta et al., 1997), a técnica do DCP apresentou baixo poder de exatidão, pois superestimou os teores de Mo nas folhas de cana-de-açúcar. Pierzinski et al. 1986 observaram que a técnica do DCP determinou teores de Mo superestimados em extratos nítrico-perclóricos de folhas de diferentes espécies de plantas, efetivamente quando as concentrações deste elemento apresentavam-se abaixo de 1,0 mg/kg. Estes mesmos autores sugeriram que a limitação deste método é ocasionada pela interferência de elementos como cálcio (Ca²⁺) e

magnésio (Mg^{2+}) que ocorrem em elevadas concentrações na matriz mineralizada da amostra, os quais apresentam detecção em comprimentos de onda próximos ao da detecção do Mo (379,28 nm). Anteriormente, Mortvedt (1981), Johnson et al. (1979 e 1980) detectaram este fenômeno em extratos mineralizados de plantas e em amostras de água, sendo que aqueles sugeriram a adição de Ca^{2+} e Mg^{2+} nas soluções de preparação das curvas padrão de calibração desta técnica aproximadamente iguais às observadas nos extratos mineralizados das plantas.

No presente estudo, este procedimento foi avaliado com a adição de concentrações de K^+ (1000 mg/L), Ca^{2+} (250 mg/L), Mg^{2+} (100 mg/L), considerando-se as concentrações médias destes macronutrientes encontradas nas folhas de cana-de-açúcar (Orlando Filho, 1985, Reis Jr., 1999). No entanto, os valores observados dos teores de Mo nestas amostras de cana-de-açúcar não sofreram alteração quando comparados àqueles observados nas amostras que não receberam adição destes elementos na solução de leitura. Eivazi e Sims (1997) avaliando a técnica do DCP para a determinação de Mo em extratos observaram que esta técnica possivelmente apresentaria limitações para a detecção de Mo em amostras de tecidos vegetais com concentração abaixo de 1,0 mg/kg deste micronutriente, mesmo que o procedimento de adição de macronutrientes à solução da curva padrão de calibração fosse adotado. Considerando-se estas observações e os resultados obtidos no presente estudo (Tabela 08), esta técnica torna-se inapropriada com o procedimento adotado no presente estudo para a determinação de Mo em estudos de avaliação do estado nutricional das plantas de cana-de-açúcar, uma vez que plantas com limitações deste micronutriente em sua nutrição apresentam teores abaixo de 0,2 mg/kg de Mo (Malavolta et al., 1997). Alternativamente, poder-se-ia adotar o procedimento de uso acoplado de resinas de troca catiônica ao processo de preparação final das amostras, para eliminação ou atenuação do efeito matriz dos macronutrientes, elevando a exatidão da técnica, uma vez que a precisão da detecção foi considerada satisfatória ($CV = 18,8\%$).

Tabela 08 – Teores de Mo nas folhas de cana de açúcar em lavouras comerciais no Brasil, determinados por espectrometria de indução direta e indução acoplada de plasma (DCP-MEAS e ICP-EAS) e por espectrofotometria (KI-H₂O₂).

Lavoura	DCP	ICP-AES	KI-H ₂ O ₂
		mg/kg	
1	1,95 ± 0,08	ND	0,34 ± 0,07
2	2,57 ± 0,77	ND	0,18 ± 0,03
3	3,01 ± 0,19	ND	0,48 ± 0,24
4	3,11 ± 0,52	ND	0,33 ± 0,08
5	1,69 ± 0,56	ND	0,48 ± 0,21
6	4,00 ± 1,27	ND	0,46 ± 0,19
7	4,06 ± 1,00	0,50 ± 0,16	0,50 ± 0,17
8	4,13 ± 0,39	0,90 ± 0,22	1,06 ± 0,25
9	2,75 ± 0,37	ND	0,33 ± 0,10
10	2,81 ± 0,31	ND	0,19 ± 0,03
11	5,50 ± 0,14	0,38 ± 0,08	0,34 ± 0,04
12	8,31 ± 1,82	ND	0,38 ± 0,11
13	6,06 ± 0,92	1,55 ± 0,10	0,96 ± 0,18
14	6,20 ± 0,31	0,70 ± 0,01	0,52 ± 0,11
15	3,25 ± 0,83	ND	0,29 ± 0,05
16	3,50 ± 1,84	ND	0,21 ± 0,05
17	1,69 ± 0,72	ND	0,15 ± 0,01
18	5,63 ± 0,41	0,68 ± 0,55	0,03 ± 0,05
19	2,75 ± 0,93	0,19 ± 0,12	0,23 ± 0,02
20	3,44 ± 1,16	ND	0,13 ± 0,01
21	5,19 ± 1,08	0,66 ± 0,07	0,64 ± 0,10
22	5,50 ± 0,47	2,40 ± 0,27	1,82 ± 0,19
23	2,96 ± 0,32	1,53 ± 0,19	1,32 ± 0,05
24	2,26 ± 0,53	0,91 ± 0,08	0,70 ± 0,12
25	3,09 ± 0,44	1,63 ± 0,17	1,53 ± 0,25
26	2,34 ± 0,28	0,59 ± 0,09	0,70 ± 0,22
27	2,32 ± 0,19	ND	1,72 ± 0,00
28	3,14 ± 1,09	0,60 ± 0,10	0,63 ± 0,06
29	1,88 ± 1,13	ND	0,76 ± 0,00
30	3,18 ± 1,85	0,56 ± 0,03	0,24 ± 0,07
31	5,43 ± 0,63	0,49 ± 0,06	0,49 ± 0,05
32	5,29 ± 0,12	ND	0,77 ± 0,00
33	4,82 ± 0,46	ND	0,39 ± 0,18
34	5,78 ± 0,51	ND	0,48 ± 0,17
35	5,36 ± 0,35	0,42 ± 0,01	0,81 ± 0,28
36	2,74 ± 0,53	ND	0,33 ± 0,08
37	1,58 ± 0,52	0,35 ± 0,04	0,70 ± 0,07
38	1,54 ± 0,31	ND	0,48 ± 0,13
39	0,94 ± 0,67	ND	0,20 ± 0,03
40	1,16 ± 0,62	ND	0,33 ± 0,02
41	1,84 ± 0,61	ND	0,16 ± 0,01
42	1,76 ± 0,53	ND	0,30 ± 0,04
43	1,53 ± 0,22	ND	ND
44	2,54 ± 0,54	0,28 ± 0,02	0,22 ± 0,06
45	1,60 ± 0,16	ND	0,26 ± 0,08
46	1,78 ± 0,12	0,31 ± 0,03	0,47 ± 0,00
47	2,44 ± 0,69	ND	0,62 ± 0,18
48	2,02 ± 0,69	ND	0,36 ± 0,16

ND = Não detectado (concentração de Mo abaixo do limite mínimo de detecção da técnica)

A avaliação da exatidão das técnicas de ICP-AES e KI-H₂O₂ foi feita pela determinação do teor de Mo em amostras de folhas de plantas de tomateiro certificadas

denominada "tomato leaves" cuja concentração de Mo foi a de 94 $\mu\text{g/kg}$ (0,094 mg/kg de Mo), em extrato mineralizado em solução nítrico-perclórica, a qual diluiu o teor de Mo na amostra em 10 vezes, sendo o mesmo detectado apenas com o uso do nebulizador ultrassônico acoplado ao ICP. Os teores de Mo encontrados pela técnica de ICP-AES com o auxílio de um aparelho nebulizador ultrassônico, que elevou a concentração de Mo nas amostras em 10 vezes, em triplicata, foi de $90 \pm 182 \mu\text{g/kg}$. Apesar de o valor médio encontrado pela técnica apresentar 96% de recuperação do Mo na amostra, observou-se uma elevada variabilidade estimada pelo desvio padrão duas vezes maior que a média. Estas amostras analisadas pelas técnicas de KI-H₂O₂ e DCP-MEAS apresentaram teores de Mo abaixo do limite mínimo de detecção, e por isso, não foram apresentados.

Outro procedimento utilizado para a avaliação exatidão de uma técnica de determinação de elementos químicos em solução é a adição de uma concentração conhecida de um padrão à amostra avaliada e estimar-se o percentual de recuperação do padrão ("adições de padrão"). Neste estudo escolheram-se aleatoriamente duas amostras dentre as avaliadas nas 48 lavouras, uma amostra de folhas de plantas de arroz e outra amostra de folhas de plantas de feijão para a avaliação da exatidão dos métodos ICP-AES e KI-H₂O₂ (Tabela 09).

Tabela 09 – Avaliação de exatidão das técnicas de determinação de Mo por espectrometria em plasma ICP-AES e espectrofotometria de absorção molecular KI-H₂O₂, pelo procedimento de "adição de padrão" em extratos minerais de amostras de folhas de cana-de-açúcar.

Amostra	Sem Padrão		Amostra	Com Padrão		
	ICP-AES	KI-H ₂ O ₂		ICP-AES	KI-H ₂ O ₂	Recuperação (%)
Feijão	0,202 $\pm$ 0,02	0,215 $\pm$ 0,05	Feijão + 0,10 mg/kg	0,304 $\pm$ 0,01	0,319 $\pm$ 0,02	100,1 104,0
Arroz	0,447 $\pm$ 0,11	0,481 $\pm$ 0,05	Arroz + 0,20 mg/kg	0,692 $\pm$ 0,02	0,690 $\pm$ 0,10	111,5 105,0
† 1053	0,06 $\pm$ 0,02	*	1053 + 0,05 mg/kg	0,092 $\pm$ 0,05	*	54,0 *
† 1084	0,448 $\pm$ 0,01	*	1084 + 0,20 mg/kg	0,469 $\pm$ 0,36	*	SR *
† 95	*	0,66 $\pm$ 0,10	95 + 0,625 mg/kg	*	1,33 $\pm$ 0,10	113,2
† 101	*	0,32 $\pm$ 0,06	101 + 0,625 mg/kg	*	0,95 $\pm$ 0,09	100,2

SR = Sem recuperação do molibdênio adicionado

† = Amostras foliares de cana-de-açúcar escolhidas ao acaso dentro das lavouras avaliadas

* = Não estimado

As duas técnicas apresentaram capacidade de recuperação de padrões de concentrações conhecidas de Mo adicionadas às amostras satisfatórias para a maioria das amostras avaliadas nos dois métodos. Nas amostras de "arroz" e de "feijão" ambas

as técnicas estimaram teores de Mo sem diferença significativa com e sem a adição de padrões, sendo considerados desta forma com elevado poder de exatidão analítica.

A baixa recuperação do padrão adicionado à amostra 1053 pela técnica de ICP-EAS foi devido à extrapolação do limite mínimo de detecção do aparelho para o Mo, o qual é colocado pelo fabricante do aparelho como sendo 0,05 mg/L em solução ácida. Considerando-se que no processo de mineralização das amostras de folhas de cana-de-açúcar realizou-se uma diluição de vinte e cinco vezes (um grama em vinte e cinco mililitros de solução) a concentração da amostra 1053 em solução ácida esperado de acordo com o detectado foi de 0,04 mg/L, abaixo do limite mínimo estabelecido pelo fabricante. Entretanto, o limite mínimo de trabalho estabelecido no laboratório de análises de plantas e de solos da Embrapa-CNPS para a detecção do Mo por ICP-EAS, foi de 0,02 mg/L, considerando-se o desvio padrão percentual relativo à média (RSD) de três leituras da mesma amostra padrão (RSD máximo = 10%).

Neste caso, considerando-se o limite mínimo de detecção do Mo por esta técnica, o teor mínimo detectável na folha de cana-de-açúcar foi o de 0,50 mg/kg, sendo que teores abaixo deste limite seriam detectados com baixa confiabilidade devida à elevação do RSD (>10,0%) nas determinações, com conseqüente diminuição da precisão da técnica de ICP-EAS. Desta forma, apesar de a técnica de ICP-EAS apresentar grandes vantagens operacionais como determinação simultânea dos teores de vários elementos em uma mesma amostra em apenas um processo, a detecção de teores de Mo em concentrações consideradas importantes para grande parte das plantas cultivadas, as quais seriam aquelas que caracterizariam situações de carência deste micronutriente na nutrição das plantas, não seriam detectadas, efetivamente em plantas da família gramineae, como a cana-de-açúcar, que, de uma maneira geral, apresentam concentrações de molibdênio críticas abaixo de 0,50 mg/kg, tanto para situações de deficiência quanto de suficiência de Mo (Gupta et al., 1997).

Os teores de Mo detectados pelas técnicas de ICP-AES e KI-H₂O₂ apresentaram significativa correlação ($r = +0,94^{**}$) bem como significativa relação (Figura 04) nas amostras em que a técnica de ICP-EAS apresentou detecção. De acordo com os coeficientes linear (intercepto = 0) e angular ($b = +0,99$) da equação da reta, observa-se que os teores de Mo detectados por ambas as técnicas são idênticos, e por isso, podem ser considerados, pelas evidências observadas neste estudo, com adequados para a detecção de Mo, com elevada precisão (Tabela 09) e exatidão aceitável (Tabela 09). Eivazi e Sims (1997) comparando a técnica do KI-H₂O₂ com a espectrofotométrica do

“tiocianato” (Johnson e Arkley, 1954), a qual sempre foi considerada a mais adequada para a determinação de Mo por apresentar maior poder detecção de Mo, observaram resultados semelhantes aos encontrados neste estudo, analisando amostras foliares de soja e tabaco. Estes autores enfatizam que a vantagem da técnica do KI-H₂O₂ é a menor manipulação das amostras e o procedimento sem manuseio de produtos tóxicos ocasionado pela técnica da “tiocianato”.

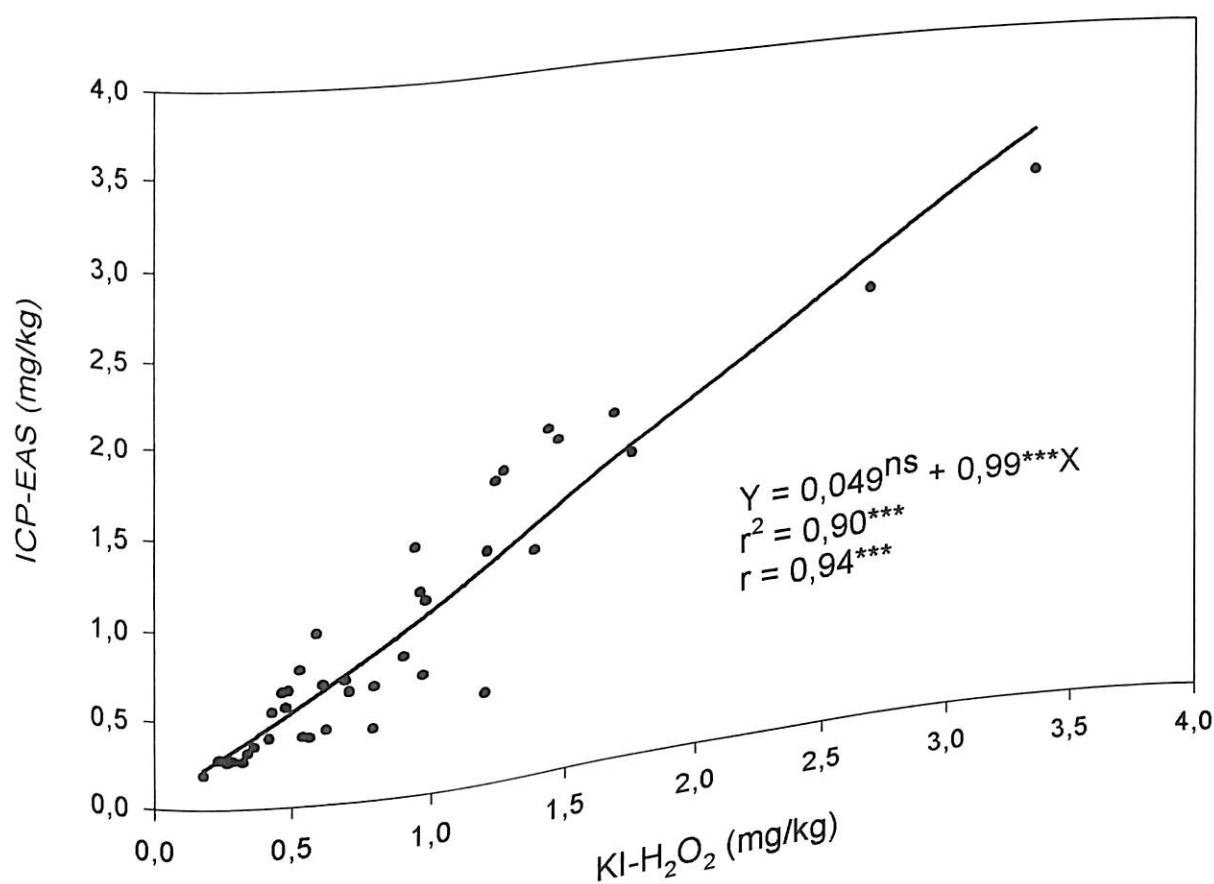


Figura 04— Correlação e regressão lineares entre os teores de Mo estimados pelas técnicas de ICP-EAS e KI-H₂O₂ nas amostras foliares de plantas de cana-de-açúcar.

A escolha de um método ou outro (KI-H₂O₂ ou ICP-EAS) para a determinação torna-se então relacionada com as características do material a ser analisado, primeiramente pelo teor de Mo que é esperado ser encontrado, sendo que para concentrações de Mo na solução analisada menores que 0,02 mg/L ou 0,500 mg/kg nas amostras vegetais, o método mais confiável foi o KI-H₂O₂ (Tabela 08). Outro fator que é determinante para a escolha de um dos dois métodos é a possibilidade da detecção

multielementar oferecida pelo uso do plasma, a qual apresenta-se como elevada praticidade pois o tempo de análise é extremamente reduzido em relação aos métodos convencionais (Sharp, 1990). Por outro lado, o elevado custo do aparelho de ICP-EAS pode ser um fator limitante para a aplicação desta técnica, pois os custos operacionais da técnica de KI-H₂O₂ são menores.

A técnica de KI-H₂O₂ apresenta como desvantagem o seu caráter cinético, sendo necessário o controle rigoroso do tempo de análise, podendo o procedimento de análise ser de difícil adequabilidade em laboratórios para a análise de amostras em rotina. Uma promissora alternativa a este impedimento é a utilização de sistemas de fluxo contínuo em auto analisadores (AAS) ou em sistemas de injeção em fluxo (FIA), nos quais a manipulação dos reagentes é minimizada e o tempo de análise permanece constante e inalterado entre a detecção em uma amostra e outra (Pessanda, 1988; Eivasi et al., 1982; Sims e Crutchfield, 1992). Estes autores demonstraram que o tempo de análise das amostras diminui significativamente, sendo possível análise de até 240 amostras por dia com jornada de trabalho de oito horas, o qual foi de 60 amostras, no mesmo período, no presente estudo.

4.3.2 NUTRIÇÃO MOLÍBDICA, PRODUTIVIDADE E FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO ATMOSFÉRICO ASSOCIADAS À CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR

Os teores de Mo observados nas folhas de cana-de-açúcar amostradas em lavouras das regiões avaliadas neste estudo variaram entre 0,13 e 1,82 mg/kg de Mo, determinados pela técnica de KI-H₂O₂ (Tabela 08). Considerando-se os teores de Mo nas lavouras situadas nos quatro Estados da Federação avaliados observou-se que, em média, as plantas cultivadas nas lavouras situadas em São Paulo apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) do teores foliares de Mo ($0,70 \pm 0,12$ mg/kg), quando comparados com Minas gerais ($0,42 \pm 0,05$ mg/kg), Pernambuco ($0,36 \pm 0,08$ mg/kg) e Rio de Janeiro ($0,43 \pm 0,14$ mg/kg). Todos os teores médios de Mo apresentados nos diferentes Estados apresentam-se acima do estimado por Malavolta et al. (1997) como nível crítico para as plantas de cana-de-açúcar, o qual cita que a faixa crítica de Mo para cana-de-açúcar em primeiro ciclo situa-se entre 0,15 e 0,30 mg/kg de Mo. Entretanto, avaliando-se os valores máximos e mínimos dos teores de Mo nestes Estados, observa-se que em algumas lavouras a nutrição molibídica da planta de cana-de-açúcar pode não estar adequada ao requerimento das plantas para que este micronutriente não seja

limitante (Tabela 08), pois se encontram fora da faixa considerada como adequada por Malavolta et al, (1997).

A detecção de limitação na nutrição molibídica para as plantas de cana-de-açúcar, avaliando-se os teores foliares deste micronutriente comparados com apenas um valor crítico, como o proposto por Malavolta (1997), pode levar a diagnósticos equivocados, uma vez que a concentração crítica de um nutriente na planta é afetada pelas características e propriedades do solo que atuam na disponibilidade deste nutriente, e especificamente para a cana-de-açúcar pode sofrer ainda influência da variedade avaliada, ciclo cultural e interações com outros nutrientes (Orlando Filho, 1985). Dentre elas, as que afetam a disponibilidade de Mo no solo são teor de argila, teor de matéria orgânica do solo e o pH, e por isso, influenciam a concentração crítica deste micronutriente nas plantas.

A Tabela 10 apresenta os teores foliares de Mo, produtividade e contribuição da FBN. Estes dados foram correlacionados com algumas características e propriedades dos solos das diferentes lavouras estudadas. Os teores foliares de Mo correlacionaram-se apenas com a textura do solo ($r = -0,51^{**}$), a qual mesmo não implicando em variação muito elevada mostram a tendência do teor de Mo nas plantas de cana-de-açúcar serem influenciados por esta propriedade do solo, atuando na capacidade tampão do mesmo. Neste caso, maiores teores de argila do solo elevam a capacidade tampão do solo que, de uma maneira geral, é acompanhada pela diminuição da concentração crítica dos nutrientes nas plantas. No entanto, a correlação observada ($r = -0,51^{**}$) indica que este fenômeno possivelmente é influenciado por outros fatores envolvidos na magnitude da nutrição molibídica das plantas de cana-de-açúcar.

Além destes fatores, as interações entre o Mo e os outros nutrientes na nutrição e no metabolismo das plantas fazem com que a concentração crítica de um nutriente seja influenciada pela concentração dos outros, principalmente aqueles que participam de processos metabólicos similares (Marschner, 1996). Dentre os nutrientes, o nitrogênio, o fósforo, ferro e o enxofre podem ser os que mais influenciam a concentração crítica de Mo nas plantas, principalmente aquelas que recebem contribuição do processo de FBN e/ou utilizam nitrato como fonte de N. Neste sentido, a avaliação do estado nutricional da cana-de-açúcar baseada apenas no teor de Mo para detecção de situações onde o manejo da lavoura seja feito para a correção desta limitação apresenta pouca capacidade preditiva, a não ser em lavouras que os teores de Mo observados nas plantas estejam relativamente muito abaixo da concentração considerada crítica para a cana-de-açúcar

(Malavolta et al., 1997). Neste estudo, dentre as lavouras em que as plantas apresentaram teores de Mo com possibilidade de serem limitantes, apenas algumas apresentaram produtividades consideradas baixas (<60 Mg/ha) enquanto que outras, apresentaram produtividades acima de mesmo com teores baixos deste micronutriente, apresentaram produtividades acima de 100 Mg/ha (Tabela 10).

4.3.3 DISPONIBILIDADE DE Mo NO SOLO

A disponibilidade de Mo nos solos das lavouras estudadas foi estimada pela aplicação da técnica proposta por Franco et al. (1979), através da avaliação da influência da disponibilidade de Mo no solo sobre a da atividade metabólica de redução de acetileno (ARA), pela enzima nitrogenase, na bactéria diazotrófica *Azotobacter paspali*. A observação de aumento significativo da ARA em *Azotobacter paspali*, pelo teste t-student, ocasionada pela adição de Mo ao solo, indicam que este micronutriente pode ser limitante para plantas cultivadas nestes solos, principalmente aquelas que dependem do processo de FBN na sua nutrição nitrogenada. Os resultados observados na tabela 11 demonstram que a maior parte das lavouras avaliadas apresentou limitação da disponibilidade de Mo, e que, excetuando-se as lavouras 22 e 25, o valor de pH do solo foi menor que 6,0 (Tabela 11), corroborando os resultados da pesquisa que demonstram que a disponibilidade de Mo é influenciada pelo pH do solo (Franco e Day, 1981; Vieira et al., 1998). Esta relação entre pH do solo e disponibilidade de Mo detectado por esta técnica, evidencia a sensibilidade da mesma para a detecção de concentrações de Mo disponível no solo inadequadas à nutrição das plantas.

Avaliou-se a relação da disponibilidade de Mo no solo com a contribuição da FBN para a cana-de-açúcar, considerando-se que quanto maior o aumento da atividade de ARA em *A. paspali* pela adição de Mo ao solo, menor é a disponibilidade de micronutriente (Figura 05). A correlação negativa entre os dados da disponibilidade de Mo no solo nas lavouras avaliadas e a contribuição da FBN nas mesmas ($r = -0,64^{**}$), evidencia que disponibilidade de Mo é limitante para contribuição da FBN para a nutrição das plantas de cana-de-açúcar. Os solos das lavouras 33 e 34 apresentaram os maiores valores de aumento da ARA em *A. paspali* quando adicionados de Mo (851,6% e 738,9%, respectivamente) (Figura 05) e as plantas de cana-de-açúcar não apresentaram evidência de contribuição significativa da FBN (Tabela 10). Nestas lavouras, a cana-de-açúcar foi cultivada em primeiro ciclo (cana-planta), apresentavam

Tabela 10 – Teores de Mo nas folhas de cana de açúcar, produtividade de colmos e contribuição média da fixação biológica do N₂ (%Ndfa) em lavouras comerciais no Brasil.

Lavoura	Teor Mo (KI-H ₂ O ₂)	Produtividade	%Ndfa		Variedade/Ciclo
			mg/kg	Mg/ha	
1	0,34 ± 0,07	80,0	40,4		CB 45-3 Segundo corte
2	0,18 ± 0,03	80,0	36,4		RB 72454 Segundo corte
3	0,48 ± 0,24	56,0	30,5		RB 72454 Segundo corte
4	0,33 ± 0,08	90,0	Ne		RB 72454 Primeiro corte
5	0,48 ± 0,21	45,0	Ne		RB 72454 Sétimo corte
6	0,46 ± 0,19	90,0	Ne		SP 701143 Primeiro corte
7	0,50 ± 0,17	40,0	Ne		SP 701143 Sétimo corte
8	1,06 ± 0,25	150,0	24,4		SP 701143 Segundo corte
9	0,33 ± 0,10	65,0	Ne		RB 72454 primeiro corte
10	0,19 ± 0,03	65,0	Ne		SP 701143 Segundo corte
11	0,34 ± 0,04	100,0	36,3		RB 784764 Segundo corte
12	0,38 ± 0,11	80,0	50,14		RB 83102 Segundo corte
13	0,96 ± 0,18	101,0	Ne		RB 806043 Terceiro corte
14	0,52 ± 0,11	40,0	Ne		RB 825336 Segundo corte
15	0,29 ± 0,05	75,0	Ne		RB 806043 Quarto corte
16	0,21 ± 0,05	56,6	Ne		SP 801842 Terceiro corte
17	0,15 ± 0,01	82,1	36,65		RB 72454 Terceiro corte
18	0,68 ± 0,05	70,8	31,22		RB 72454 Terceiro corte
19	0,23 ± 0,02	126,6	41,6		RB 72454 Primeiro corte
20	0,13 ± 0,01	140,0	36,0		SP 801842 Primeiro corte
21	0,64 ± 0,10	61,3	42,6		SP 701143 Quinto corte
22	1,82 ± 0,19	120,0	0,0		RB 813250 Segundo corte
23	1,32 ± 0,05	61,0	Ne		RB 72454 Quarto corte
24	0,70 ± 0,12	72,9	Ne		SP 835089 Segundo corte
25	1,53 ± 0,25	37,0	Ne		RB 835089 Segundo corte
26	0,70 ± 0,22	61,3	38,7		SP 791011 Quarto corte
27	1,72 ± 0,00	120,0	40,0		RB 813250 Primeiro corte
28	0,63 ± 0,06	130,0	51,8		RB 72454 Segundo corte
29	0,76 ± 0,00	110,0	58,4		RB 825335 Segundo corte
30	0,24 ± 0,07	51,0	17,5		SP 732233 Terceiro corte
31	0,49 ± 0,05	65,0	18,0		SP 801842 Segundo corte
32	0,77 ± 0,00	70,0	0,0		RB 739359 Sexto corte
33	0,39 ± 0,18	80,0	24,0		RB 801842 Primeiro corte
34	0,48 ± 0,17	120,0	0,0		SP 791011 Primeiro corte
35	0,81 ± 0,28	120,0	0,0		SP 867515 Primeiro corte
36	0,33 ± 0,08	60,0	0,0		RB 72454 Primeiro corte
37	0,70 ± 0,07	117,9	36,4		RB 72454 Primeiro corte
38	0,48 ± 0,13	90,0	27,5		SP 801842 Quinto corte
39	0,20 ± 0,03	77,9	0,0		RB 739359 Primeiro corte
40	0,33 ± 0,02	122,6	0,0		CB 45-3 Primeiro corte
41	0,16 ± 0,01	97,9	0,0		RB 867515 Primeiro corte
42	0,30 ± 0,04	95,8	Ne		SP 791011 Segundo corte
43	ND	64,6	Ne		RB 739389 Terceiro corte
44	0,22 ± 0,06	100,0	Ne		RB 72454 Terceiro corte
45	0,26 ± 0,08	80,0	Ne		SP 801842 Primeiro corte
46	0,47 ± 0,00	Ne	Ne		RB 765418 Primeiro corte
47	0,62 ± 0,18	Ne	Ne		RB 739354 Primeiro corte
48	0,36 ± 0,16	Ne	Ne		Sp 701143 Primeiro corte
			Ne		SP 801842 Primeiro corte

ND = Não determinado Ne = Não estimado

produtividades baixas para este ciclo (lavoura 33 = 70,0 Mg/ha e lavoura 34 = 80,0 Mg/ha) e, considerando-se que foram adicionados todos os macronutrientes minerais na forma de fertilizantes adequadamente, exceto o N, o Mo pode estar limitando a elevação da produtividade nestas lavouras, apesar de as concentrações foliares estarem acima do nível crítico estabelecido por Malavolta et al. (1997). Esta limitação na produtividade pode ser principalmente causada pela baixa eficiência na contribuição do processo de FBN associado às variedades cultivadas nestas lavouras (SP 791011 e SP 801842), para a nutrição nitrogenada das plantas.

Estas mesmas variedades quando cultivadas nas lavouras 17, 20 (SP 801842) e na lavoura 26 (SP 791011) apresentaram contribuições significativas do processo de FBN para a nutrição nitrogenada das plantas e o solo não apresentou limitações na disponibilidade de Mo (Tabela 11) e as produtividades foram melhores que as das lavouras 33 e 34 (Lavoura 17 = 82,2 Mg/ha, terceiro corte, Lavoura 20 = 140 Mg/ha, primeiro corte e Lavoura 26 = 61,2 Mg/ha, quarto corte). No entanto, nas plantas cultivadas nestas lavouras o teor de Mo variou entre 0,13 a 0,70 mg/kg, que não diferiram dos teores encontrados nas plantas cultivadas nas lavouras 33 e 34 (Tabela 10). Estes resultados implicam à consideração de que a avaliação da nutrição molibídica das plantas de cana-de-açúcar considerando-se apenas o teor de Mo nas folhas (nível crítico), isoladamente, não é uma técnica eficaz no diagnóstico de limitações no fornecimento deste micronutriente para as plantas. Além disso, a variedade SP 801842 mesmo cultivada na lavoura 37 que não foi detectada limitação da disponibilidade de Mo no solo, não apresentou contribuição significativa da FBN para as plantas, e o teor de Mo nas plantas foi o de 0,70 mg/kg, concentração acima da citada como crítica para a cana-de-açúcar por Malavolta et al. (1997), evidenciando que outro fator, exceto o Mo, pode estar limitando o processo de FBN associado à cana-de-açúcar.

A figura 05 ainda fornece uma informação importante com relação à contribuição média da FBN para a cultura da cana-de-açúcar ao se avaliar os coeficientes da equação de regressão linear simples ($Y = 34,54 - 0,20X$) onde o coeficiente linear da reta (intercepto = 34,54) indica a contribuição média da FBN quando em lavouras de cana-de-açúcar cujos solos não apresentaram limitações na disponibilidade de Mo, foi de 34,5%. Este valor é bastante próximo ao estimado no capítulo I deste trabalho (28,5 a 30,0% de Nfda), utilizando-se outros procedimentos de cálculo.

Tabela 11 – Disponibilidade de Mo no solo estimada pela atividade de redução de acetileno em *Azotobacter paspali*, em resposta à adição de Mo (nmol C₂H₄.h⁻¹.frasco⁻¹)

Lavoura	MOS	Solo		PH	nmol C ₂ H ₄ .h ⁻¹ .frasco ⁻¹		% Aumento
		N-total	Argila		+Mo	-Mo	
1	2,27	0,25	35	5,7	114,5	112,7	NS
2	2,36	0,26	35	5,7	114,5	112,7	NS
3	2,10	0,22	19	4,1	265,1	190,8	39,0
8	18,0	1,0	turfa	4,7	nd	nd	Nd
11	1,68	0,16	36	5,6	178,5	186,2	NS
12	1,85	0,09	36	4,6	376,3	363,4	NS
17	1,62	0,09	63	5,5	185,0	196,0	NS
18	0,67	0,04	12	5,6	300,1	165,6	81,3
19	0,85	0,04	13	6,1	227,5	159,0	43,0
20	1,95	0,12	71	6,3	443,1	389,2	NS
21	0,82	0,04	09	5,5	608,7	236,7	157,1
22	0,80	0,05	09	6,6	395,2	200,5	97,1
25	0,59	0,03	07	7,0	263,4	102,6	156,6
26	0,87	0,04	25	5,9	223,8	181,9	23,0
27	1,50	0,10	54	4,6	121,1	93,4	29,7
28	2,55	0,16	54	5,8	469,4	425,7	NS
29	1,03	0,06	18	7,0	65,7	68,3	NS
30	1,05	0,06	18	5,4	230,7	88,4	160,9
31	0,44	0,13	40	6,2	82,4	66,6	23,7
32	1,86	0,12	40	5,0	226,6	102,1	121,9
33	1,86	0,13	46	5,0	283,1	29,8	851,6
34	2,14	0,25	46	5,9	787,4	93,9	738,9
35	2,68	0,09	31	5,3	54,2	51,8	NS
36	1,58	0,11	53	4,8	382,3	236,3	61,8
37	2,28	0,11	51	6,0	324,5	323,2	NS
38	1,98	0,10		4,7	174,0	126,5	37,5
39	1,53			4,5	563,9	344,8	63,5

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade
 *** Significativo ao nível de 0,1% de probabilidade

Teste F
 Solo 4,73***
 Mo 31,6***
 Solo x Mo 1,7*
 CV(%) 69,6

NS = Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste "t-student".

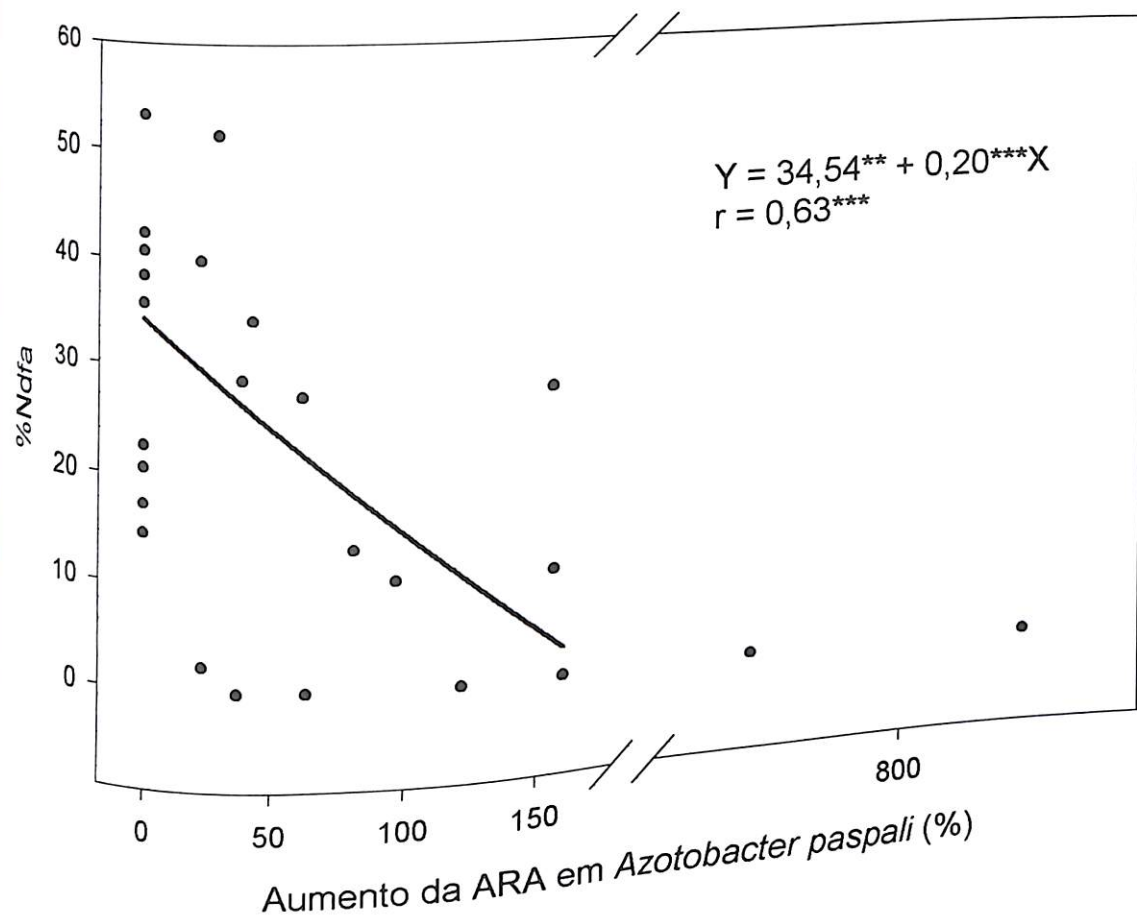


Figura 05 – Correlação e regressão lineares entre a disponibilidade de Mo no solo (ARA) e a contribuição da fixação biológica de nitrogênio (%Ndfa) em lavouras de cana-de-açúcar

4.4 CONCLUSÕES

- 1- A técnica de DCP-MAES não foi adequada para a detecção do teor de Mo nas folhas de cana-de-açúcar.
- 2- As técnicas de ICP-AES e KI-H₂O₂ foram adequadas para a detecção de Mo nas folhas de cana-de-açúcar, sendo que a KI-H₂O₂ apresentou limite mínimo de detecção quatro vezes menor que ICP-EAS, sendo mais apropriada para a detecção de teores de Mo abaixo de 0,50 mg/kg nas folhas de cana-de-açúcar
- 3- Os teores de Mo observados nas plantas de cana-de-açúcar não se correlacionaram com a produção das lavouras e com a contribuição da FBN para as plantas de cana-de-açúcar, quando avaliado isoladamente.
- 4- A técnica de avaliação da disponibilidade de Mo no solo proposta por Franco et. al. (1979) foi adequada para estudos da fertilidade do solo em lavouras de cana-de-açúcar
- 5- A disponibilidade de Mo no solo das lavouras avaliadas limitou a contribuição da FBN e a produtividade da cultura da cana-de-açúcar.

5 **CAPÍTULO 3- OTIMIZAÇÃO DA NUTRIÇÃO NITROGENADA DAS
PLANTAS E DA PRODUTIVIDADE DE LAVOURAS
DE CANA-DE-AÇÚCAR, NA REGIÃO CANAVIEIRA
DE CAMPOS DOS GOYTACAZES, ATRAVÉS DA
ADUBAÇÃO COM MOLIBDÊNIO.**

5.1 INTRODUÇÃO

No Estado do Rio de Janeiro, principalmente no município de Campos dos Goytacazes, a recente crise pela qual o setor sucroalcooleiro tem atravessado, causou uma grande retração no número de Usinas e Destilarias em atividade, com conseqüente redução de 20% da área cultivada com esta cultura, atualmente, em cerca de 160 mil ha, além de apresentar uma das mais baixas produtividades agrícolas e rendimento industrial do País (Morgado e Vieira, 1999). A cana-de-açúcar é historicamente estratégica na geração de divisas para o Rio de Janeiro que, mesmo com a crise do setor, torna necessária a elaboração de planos de recuperação da atividade sucroalcooleira neste Estado.

Diversas estratégias podem ser adotadas nos diferentes setores da agroindústria sucroalcooleira, visando otimizar os processos que impetram maiores custos de produção. Os gastos com fertilizantes são bastante influentes nestes custos, podendo, em áreas cultivadas que apresentam classes de solos de baixa fertilidade natural, tornar a produção inviável economicamente, caso seja seguida a recomendação técnica convencional. A adubação nitrogenada é a que mais contribui para o elevado custo desta prática, principalmente pelo alto custo do N-fertilizante e pelas perdas expressivas do fertilizante do solo, a qual pode chegar a 70%, em condições extremas (Urquiaga e Zapata, 2000). Portanto, práticas de manejo alternativas que aumentem a eficiência do uso de N-fertilizante e, principalmente, otimizem os processos biológicos envolvidos no fornecimento deste nutriente para as plantas de cana-de-açúcar, são de grande importância para a diminuição dos custos de produção desta cultura, bem como para a diminuição do impacto ambiental do uso inadequado de fertilizantes.

Os estudos iniciais com a nutrição e o metabolismo do N na cultura da cana-de-açúcar concentravam seus objetivos na avaliação de práticas de manejo e os aspectos

fisiológicos das plantas que permitiriam maior eficiência no uso do N-mineral do solo bem como do N-fertilizante aplicados à cultura. A forma de N-mineral preferencialmente absorvida pelas plantas de cana-de-açúcar, e disponível na maioria dos solos cultivados com esta cultura é o NO_3^- (Malavolta et al., 1997), no entanto, a assimilação deste nutriente é condicionada à sua redução à amônia pela planta, a qual é inicialmente realizada pela enzima redutase do nitrato.

Por outro lado, a investigação da presença de bactérias diazotróficas, capazes de fixarem o N_2 à NH_3 , pela atividade da enzima nitrogenase, associadas às plantas de cana-de-açúcar, iniciada na década de 1950 pela Dra. Johanna Döbereiner, sustentam, atualmente, as evidências de que vários gêneros destas bactérias encontradas na região da rizosfera – associativase de vida livre – colonizando endofiticamente tecidos da raiz, caule e folhas da planta de cana-de-açúcar – endofíticas – são responsáveis pelo fornecimento de significativa contribuição de N na nutrição nitrogenada via FBN nesta cultura (Döbereiner e Ruschel, 1958; Döbereiner 1959, 1961; Ruschel et al., 1975; 1978; Purchase, 1980; Graciolli et al., 1983; Baldani et al., 1986; Cavalcante e Döbereiner, 1988; Gillis et al., 1989; Döbereiner, 1992; Baldani et al., 1996; Baldani et al., 1997; Olivares, 1997). Recentes trabalhos realizados pela Embrapa-Agrobiologia evidenciaram que algumas variedades de cana-de-açúcar apresentam o potencial de obterem, em condições ideais, até 70% do N-acumulado na matéria seca do processo de fixação biológicas do nitrogênio (FBN) associado à cultura (Lima et al., 1987; Urquiaga et al., 1992), indicando que cerca de 50 -100 kg/ha/ano de N sejam incorporadas na planta de cana-de-açúcar através da FBN. Esta alternativa de fornecimento de N para a cultura da cana-de-açúcar de fonte biológica tem além do aspecto econômico, o qual potencializa a total eliminação do uso de N-fertilizante nesta cultura, implicações ecológicas e ambientais mais relevantes, o que justifica a necessidade de exploração deste potencial biológico, enfatizando os estudos dos fatores que atuam no processo de FBN.

Estes dois processos de assimilação de N nas plantas de cana-de-açúcar, condicionados pela atividade das enzimas redutase do nitrato e nitrogenase, necessitam serem otimizados para que este nutriente não limite a produtividade desta cultura, e que as perdas de N-mineral do solo, num processo de degradação ambiental, sejam minimizadas. A atividade de ambas as enzimas apresentam extrema dependência do fornecimento adequado de Mo, uma vez que esse micronutriente participa do co-fator essencial para a redução do N_2 e, inicialmente do NO_3^- a NH_3 (Shah et al., 1984, Gupta

e Lipsett, 1981; Romheld & Marschner, 1991). Estudos realizados avaliando a importância do Mo no metabolismo do N e no crescimento da cana-de-açúcar demonstraram que a assimilação N-NO_3^- pelas plantas foi significativamente aumentado pela aplicação deste micronutriente (Agarwalla et al. 1984, Chatterjee et al, 1999) e que, em solos de baixa fertilidade natural, o uso desta forma de N-mineral foi condicionado pela aplicação do Mo (Fernandes e Almeida, 1982). Recentes estudos evidenciaram o papel do Mo na FBN associada à cana-de-açúcar demonstrando que a produtividade da cultura em lavouras onde não se aplicou N-fertilizante em solos de baixa disponibilidade deste nutriente aumentou em aproximadamente 25%, apenas com a aplicação de Mo. Estes autores atribuíram este acréscimo na produtividade ao aumento da contribuição da FBN para a nutrição nitrogenada das plantas pela aplicação do Mo (Urquiaga et al., 1996). Estes resultados indicam que em lavouras de cana-de-açúcar, principalmente em áreas com classes de solos de baixa fertilidade natural, o Mo pode estar limitando o fornecimento e utilização adequados do N e, conseqüentemente, a produtividade desta cultura.

Objetivos deste trabalho:

- (1) Avaliar o efeito da fertilização nitrogenada e molíbdica na produtividade da variedade RB 72454, em segundo ciclo cultural (primeira soca);
- (2) Avaliar o efeito da aplicação de Mo na eficiência de utilização de N-mineral e otimização da contribuição da fixação biológica de nitrogênio atmosférico associada a esta variedade

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 CARACTERIZAÇÃO E HISTÓRICO DA ÁREA E DAS CONDIÇÕES DE ESTUDO

Este estudo foi realizado durante o ano agrícola de 1998/99, através do trabalho em parceria entre a Embrapa-Agrobiologia e a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – “Campus Leonel Miranda” com a Usina Santa Cruz S/A, no município de Campos dos Goytacazes, localizado ao norte do Estado do Rio de Janeiro.

O experimento foi conduzido em uma lavoura comercial de cana-de-açúcar, plantada com a variedade RB 72-454 em segundo ciclo de cultivo (primeira soca), localizada entre a margem direita do Rio Paraíba do Sul e a rodovia Campos – São Fidelis, km 03. A área foi cultivada anteriormente com esta cultura por um período acima de 100 anos, continuamente. O relevo é plano, solo da classe cambissolo, textura silto-argilosa, média fertilidade natural, de drenagem imperfeita, característico da região conhecida como “baixada do Rio Paraíba do Sul”, cujas características químicas e as propriedades físicas se apresentam na Tabela 13. O clima da região é classificado como tipo Aw, de acordo com o sistema de classificação de Köppen, caracterizado por apresentar um período chuvoso e outro seco bem definido (Azevedo et al. 2000) (Figura 06).

Tabela 12 – Características químicas e físicas do solo em estudo (Embrapa, 1997)

Classe de Solo	pH (água)	Al ³⁺ cmol _c .dm ⁻³	Ca ²⁺ cmol _c .dm ⁻³	Mg ²⁺ cmol _c .dm ⁻³	K cmol _c .dm ⁻³	P mg.dm ⁻³	N _{mineral} mg.dm ⁻³	N _{total} g.dm ⁻³
Cambissolo	5,1	0,4	5,9	4,7	0,217	6,0	13,13	0,141
			Areia fina		Silte		Argila	
		Areia Grossa						340
			g/kg		450			
		50	160					

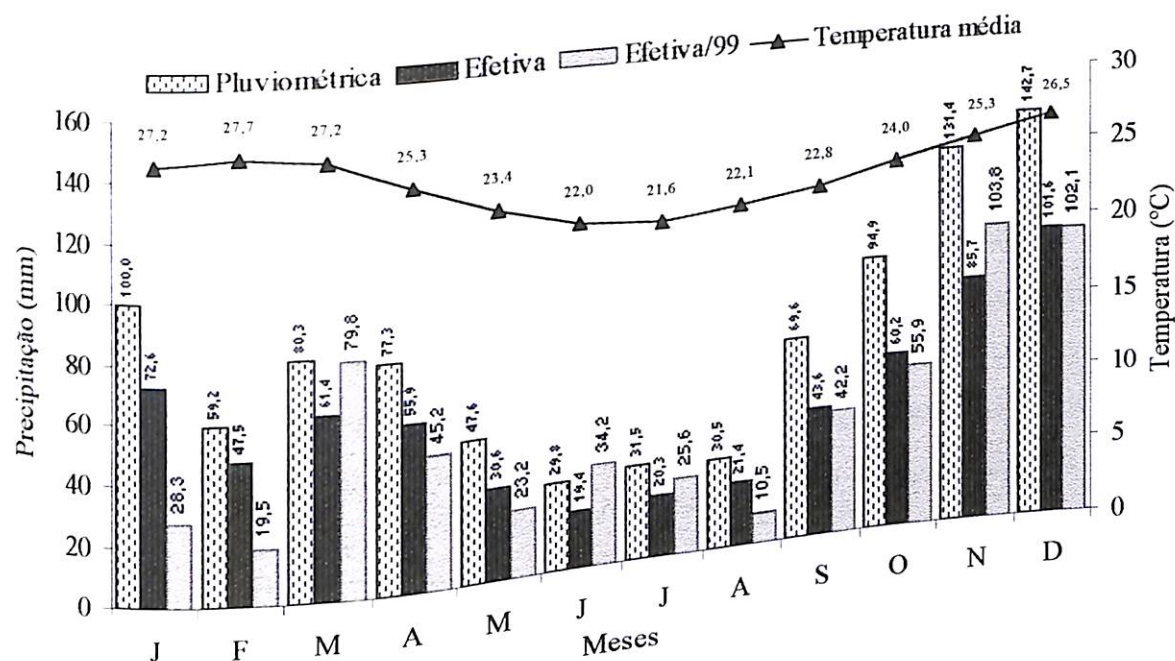


Figura 06 – Precipitação pluviométrica, precipitação efetiva, e temperatura do ar do município de Campos dos Goytacazes (valores médios mensais do período de 1975 a 1999 e no ano de 1999), adaptado de Azevedo et al. (2000).

5.2.1.1 CONDIÇÕES DE INSTALAÇÃO E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

No momento do plantio da lavoura, no mês de novembro de 1997, foi feita a correção da acidez e da fertilidade natural do solo pela aplicação de calcário dolomítico (500 kg/ha), superfosfato simples (500 kg/ha) e de cloreto de potássio (150 kg/ha), além de “torta de filtro” (15,0 t/ha), todos de forma localizada no sulco de plantio. A primeira colheita realizada nesta lavoura foi feita sem utilização da prática da queima da palhada, cana-crua, no mês de dezembro de 1998.

No mês de janeiro de 1999, aos trinta dias após a colheita (DAC), foram marcadas as unidades experimentais, que se constituíram por parcelas de cinco linhas de plantio com dez metros de comprimento, num espaçamento de 1,2m, resultando em 60 m² de área, sendo consideradas as três linhas centrais para as avaliações das

características em estudo (Área útil). Em todas as parcelas aplicou-se cloreto de potássio em superfície (150 kg/ha de K_2O na forma de KCl). O desenho experimental foi constituído por 12 tratamentos resultantes de um arranjo fatorial 4×3 , representando quatro níveis de Mo (0, 100, 200 e 400 g/ha), na forma de molibdato de sódio, três níveis de nitrogênio (0, 60 e 120 kg/ha), na forma de sulfato de amônio, com quatro repetições, no delineamento em blocos ao acaso.

Aos sessenta dias após a colheita foram feitas as aplicações dos tratamentos, sendo que o molibdato de sódio foi aplicado por pulverização foliar, com jato direcionado à região mediana das folhas das plantas, na qual o sal foi diluído em água adicionada de uma substância detergente neutra adesiva, e a solução aplicada na quantidade de 400 L/ha. No dia seguinte, aplicou-se o sulfato de amônio, em cobertura, na linha de plantio, manualmente. Nas parcelas referentes aos tratamentos onde o nível de N aplicado foi de 60 kg/ha, em todos os níveis de Mo, delimitou-se uma área de 3,6m lineares na linha central (terceira linha) e aplicou-se o sulfato de amônio enriquecido com ^{15}N 1% atm. exc., separadamente (Urquiaga, S. Com. Pessoal). A lavoura não recebeu tratamentos adicionais ao adotado pela Usina rotineiramente, inclusive sem irrigação artificial. O regime hídrico da lavoura foi condicionado ao volume de água da precipitação pluviométrica da região (Figura 04).

5.2.2 CARACTERÍSTICAS AVALIADAS NAS PLANTAS DE CANA-DE-AÇÚCAR

5.2.2.1 DETERMINAÇÃO DOS TEORES FOLIARES DE N E DE Mo

Amostras das folhas denominadas +3 (Gallo, 1970) foram coletadas aos três meses (trinta dias após a aplicação dos tratamentos) e aos oito meses após a brotação das plantas de cana-de-açúcar. No momento da amostragem foram coletadas 15 folhas na área útil de cada parcela, retirada a nervura central, utilizando-se apenas o terço médio das mesmas, sem a nervura central. As amostras foram lavadas em detergente neutro, enxaguadas em água corrente deionizada e secadas em estufa com ventilação forçada, por 72 horas, à temperatura de $65^{\circ}C$, até peso constante, e foram passadas em moinho tipo Wiley em peneira de 60 mesh.

O teor de nitrogênio total foi analisado por mineralização em solução sulfúrica, adicionada de catalisadores ($K_2SO_4 + CuSO_4 + Selênio$), e determinado por titulometria com ácido bórico semi-automática em destilador Kjeltex, pela técnica de Kjeldal. O teor

de molibdênio foi analisado pela técnica do iodeto de potássio, como descrito no capítulo II, apenas nas amostras coletadas aos oito meses após o corte da lavoura.

5.2.2.2 QUANTIFICAÇÃO DAS POPULAÇÕES DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ASSOCIADAS À CANA-DE-AÇÚCAR

A enumeração da população de bactérias diazotróficas associadas à cana-de-açúcar foi feita em raízes das plantas coletadas aos oito meses de cultivo com o uso da técnica do número mais provável (NMP). Nesta avaliação foram utilizadas diluições seriadas de dez gramas de massa de raízes trituradas (razão 10) entre 10^2 a 10^{-7} , e inoculadas em meios semi-sólidos semi-seletivos denominados JNFb, para quantificação de *Herbaspirillum* sp. e *Azospirillum* spp. e LGI-P para *Gluconacetobacter diazotrophicus*. O número mais provável foi determinado com auxílio da tabela de probabilidades proposta por Mc. Crady, tomando-se como referência o número de frascos positivos em cada diluição (Dobereiner et al., 1995)

5.2.2.3 PRODUTIVIDADE DA LAVOURA E BIOMASSA ACUMULADA NA PARTE AÉREA

O experimento foi coletado aos 10 meses após o corte (11/1999), sem a utilização do procedimento da queima da palhada, para serem feitas as determinações dos pesos das massas frescas da parte aérea das plantas, a qual foi dividida em colmos (utilizado para estimar a produtividade comercial da lavoura), palhada e ponteiros da planta (bandeiras), onde se encontravam apenas as folhas ainda não senescentes. As avaliações foram feitas considerando-se apenas as plantas coletadas na "área útil" da parcela. Em seguida foram feitas amostragens de todas as referidas partes das plantas medidas para a determinação da relação peso fresco/peso seco das amostras, para a estimativa do peso da matéria seca de cada parte (colmos, bandeiras e palhada) e peso seco da biomassa total da parte aérea das plantas. Para isso determinou-se o peso da massa fresca de cada uma das frações e as amostras foram secadas em estufa, determinado o peso seco. Posteriormente, as amostras foram passadas por moinho tipo Wiley, e analisadas quanto aos teores de N e de Mo conforme descrito anteriormente. Nas amostras de bandeiras não foram analisados os teores de Mo, sendo utilizados os teores determinados nas

folhas coletadas aos 8 meses de cultivo para a avaliação da nutrição molibídica das plantas de cana-de-açúcar.

5.2.2.4 EFICIÊNCIA DE APROVEITAMENTO DO N-FERTILIZANTE

Nas parcelas que receberam o tratamento referente ao nível de aplicação de N-fertilizante correspondente à dose de 60,0 kg/ha, foram retiradas amostras da parte aérea das plantas no local onde se aplicou o N-fertilizante enriquecido com $^{15}\text{N}_{1\%}$ átomexces.. As amostras foram estratificadas em colmos, bandeiras e palhada e foram processadas como descrito anteriormente, recebendo, adicionalmente, a moagem em moinho de rolagem até a granulometria menor que 400 mesh. As amostras foram analisadas por espectrometria de massas, em espectrômetro Finigan Matt, modelo Delta Plus, para a determinação da abundância de ^{15}N (Boddey et al., 2001).

A eficiência do aproveitamento do N-fertilizante foi estimada através da técnica isotópica de ^{15}N pelo cálculo sugerido por Boddey et al. (1995), com a utilização da fórmula, como se segue:

$$\%Ndfa = \left(\frac{\text{atm. exc. } ^{15}\text{N planta teste}}{\text{atm. exc. } ^{15}\text{N Fertilizante}} \right) \times 100$$

Onde:

$\%Ndfa$ = Fração do N-fertilizante aplicado aproveitada pelas plantas de cana-de-açúcar.

Atm exc ^{15}N Fertilizante: Átomos de ^{15}N em excesso no fertilizante nitrogenado (1%)

Atm exc ^{15}N planta teste: Átomos de ^{15}N em excesso nas plantas de cana-de-açúcar.

5.2.2.5 CONTRIBUIÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO ATMOSFÉRICO NA ACUMULAÇÃO DE N PELAS PLANTAS

A estimativa da contribuição da FBN para as plantas de cana-de-açúcar foi avaliada pela técnica de abundância natural de ^{15}N (delta, $\delta^{15}\text{N}$) (Shearer, et al., 1986 e Boddey et al., 2001), como descrito no capítulo I. Por esta técnica estimou-se a contribuição percentual de nitrogênio proveniente do processo de FBN nas plantas através da aplicação da fórmula seguinte:

$$\%FBN = \left(\frac{(\delta^{15}N_{\text{planta testemunha}} - \delta^{15}N_{\text{planta teste}})}{(\delta^{15}N_{\text{planta testemunha}} - B)} \right) \times 100$$

Sendo:

$\%FBN$ = Fração do total de N acumulado pela planta proveniente do processo de FBN

$\delta^{15}N$ da planta testemunha – Valor de $\delta^{15}N$ de plantas que não apresentam o processo de FBN associado (plantas invasoras)

$\delta^{15}N$ da planta teste - Valor de $\delta^{15}N$ da planta de cana-de-açúcar

B – Valor da discriminação isotópica de ^{15}N na planta de cana-de-açúcar durante a acumulação de N proveniente do processo de FBN (Neste estudo, foi considerado igual a zero (0) Boddey et al., 2001).

As estimativas da contribuição da FBN para as plantas de cana-de-açúcar ($\%Ndfa$) foram realizadas apenas nos tratamentos que não receberam N-fertilizante, sendo coletadas as amostras de folhas de cana-de-açúcar e de plantas invasoras em cada uma das parcelas de cada tratamento isoladamente. Para cada planta testemunha foram analisadas quatro repetições, sendo que cada repetição foi composta pelas amostras coletas nas quatro parcelas de cada um dos tratamentos avaliados.

5.2.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Aplicaram-se os testes de Liliffors para a avaliação da adequação dos dados à distribuição normal em torno da média geral os testes de Cochran e de Bartlett para a avaliação da homocedastia da distribuição da variância. Utilizou-se a análise de variância com o uso do teste “F” para observação efeito geral das doses de N e de Mo bem como o efeito da interação entre os fatores em estudo. Os efeitos das doses de N e de Mo foram estimados pelo procedimento de regressão múltipla, onde os modelos matemáticos aproximativos ajustados foram escolhidos segundo a significância dos coeficientes angulares de cada fator em estudo pelo teste “t-student”, aos níveis de 10%, 5% e 1% de significância. Utilizaram-se os modelos matemáticos para a estimativa das doses recomendadas para as máximas eficiências física e econômica e dos níveis críticos de nitrogênio e de molibdênio na plantas de cana-de-açúcar, seguindo-se procedimento proposto por Alvarez V. (1994).

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.3.1 APECTOS AGRONÔMICOS

A produtividade da cultura, avaliada pelo rendimento de colmos, foi aumentada de forma significativa pela aplicação de Mo ($p < 0,01$) e de N ($p < 0,10$). A estimativa da produtividade média foi de 59,2 Mg/ha com valores mínimos e máximos de 47,6 e 72,4 Mg/ha, respectivamente (Tabela 13). A baixa produtividade observada neste estudo, apesar de estar acima da produtividade média do Estado do Rio de Janeiro, pode ter sido ocasionada pela baixa incidência de chuvas ocorrida na região de Campos dos Goytacazes resultante da ocorrência de um veranico, no período de rebrota das plantas (janeiro e fevereiro), no ano da safra avaliada (1998/1999) (Figura 06), uma vez que no manejo da lavoura não foi incluída a prática da irrigação. Este fator foi bastante prejudicial para a variedade RB 72454 que apresenta problemas na rebrota em situação de déficit hídrico no solo. Outros fatores que podem ter influenciado foram a fertilidade natural do solo e a colheita das plantas ter sido realizada aos dez meses de cultivo das plantas. Além disso, a classe de solo da lavoura é cambissolo textura silte-argilosa, com elevados teores de silte e de argila com predominância de minerais de alta atividade (2:1) que ocasionam impedimentos físicos no solo para adequado desenvolvimento do sistema radicular das plantas e na rebrota, fazendo com que as limitações à produtividade ocasionadas pela baixa precipitação pluviométrica sejam mais marcantes.

Considerando-se os valores médios estimados para o rendimento de colmos observados na Tabela 13, avaliaram-se os efeitos das adições das doses de Mo e de N através do procedimento estatístico de análise de regressão múltipla para a escolha do modelo matemático aproximativo que melhor se ajustou às observações, dentro da matriz gerada pelo fatorial 3×4 resultado das combinações entre os níveis de N e de Mo,

respectivamente. Através de modelo matemático ajustado, as doses recomendáveis para a obtenção da máxima eficiência física (MEF) para a produção de colmos na lavoura de N e de Mo foram estimadas em 70,5 kg/ha e 392,3 g/ha, respectivamente (Figura 07). A produtividade máxima da lavoura estimada como efeito aplicação da combinação destas doses de fertilizantes foi de 65,6 Mg/ha, a qual representa aumento de aproximadamente 20 Mg/ha de colmos frescos em relação ao tratamento testemunha (sem adição de fertilizantes), equivalente a 40% de aumento de produtividade.

Tabela 13 – Produtividade da cana-de-açúcar, variedade RB 72 454 (rendimento de colmos) cultivada em diferentes níveis de aplicação de doses de Mo e de N.

N.		Doses de Molibdênio				Efeito N
Doses de N Kg/ha	g/ha					
	0	100	200	400		
	Mg/ha					
0	47,6	53,7	56,7	61,8	54,95	
60	51,2	56,9	72,4	65,7	61,55	
120	55,3	64,4	64,2	60	60,98	
Efeito Mo	51,37	58,3	64,43	62,50		
Efeito Bloco	Quadrado Médio					
Mo	149.5024 ^{ns}					
N	345.43**					
N x Mo	189.30°					
CV%	101.4762 ^{ns}					
	14,57					

** , ° Significativo ao nível de 5%, e 10% de probabilidade, respectivamente

^{ns} Não significativo ao nível de 10% pelo teste F

figura 07 o efeito linear de N foi

efeito linear de

**, ° Significativo ao nível de 5%, e 10% de probabilidade, respectivamente
^{ns} Não significativo ao nível de 10% pelo teste F

Dentro do modelo matemático ajustado na figura 07 o efeito linear de N foi considerado na equação, mesmo não sendo significativo pelo fato de o efeito linear de Mo ter sido significativo, causando obrigatoriedade da presença do efeito linear de N para a complementação do modelo matemático (Alvarez V., 1994). A estimativa da máxima do rendimento de colmos equivalente à máxima eficiência econômica teórica (MEE) (62,0 Mg/ha) da lavoura foi obtida considerando-se a produção de 95% da máxima eficiência física. As combinações de forma equilibrada foram obtidas pela estimativa da obtenção desta produtividade de forma equilibrada de N e de Mo pela adição dos respectivos fertilizantes. Para isso, realizaram-se cortes verticais ortogonais à superfície de resposta à aplicação das doses de N e de Mo (Figura 07) para as somas constantes

das doses de N e de Mo iguais a 40, 80 e 120 (Alvarez V., 1994). As intersecções entre as curvas de produção no corte para a MEE e CRO permitem estimar as combinações

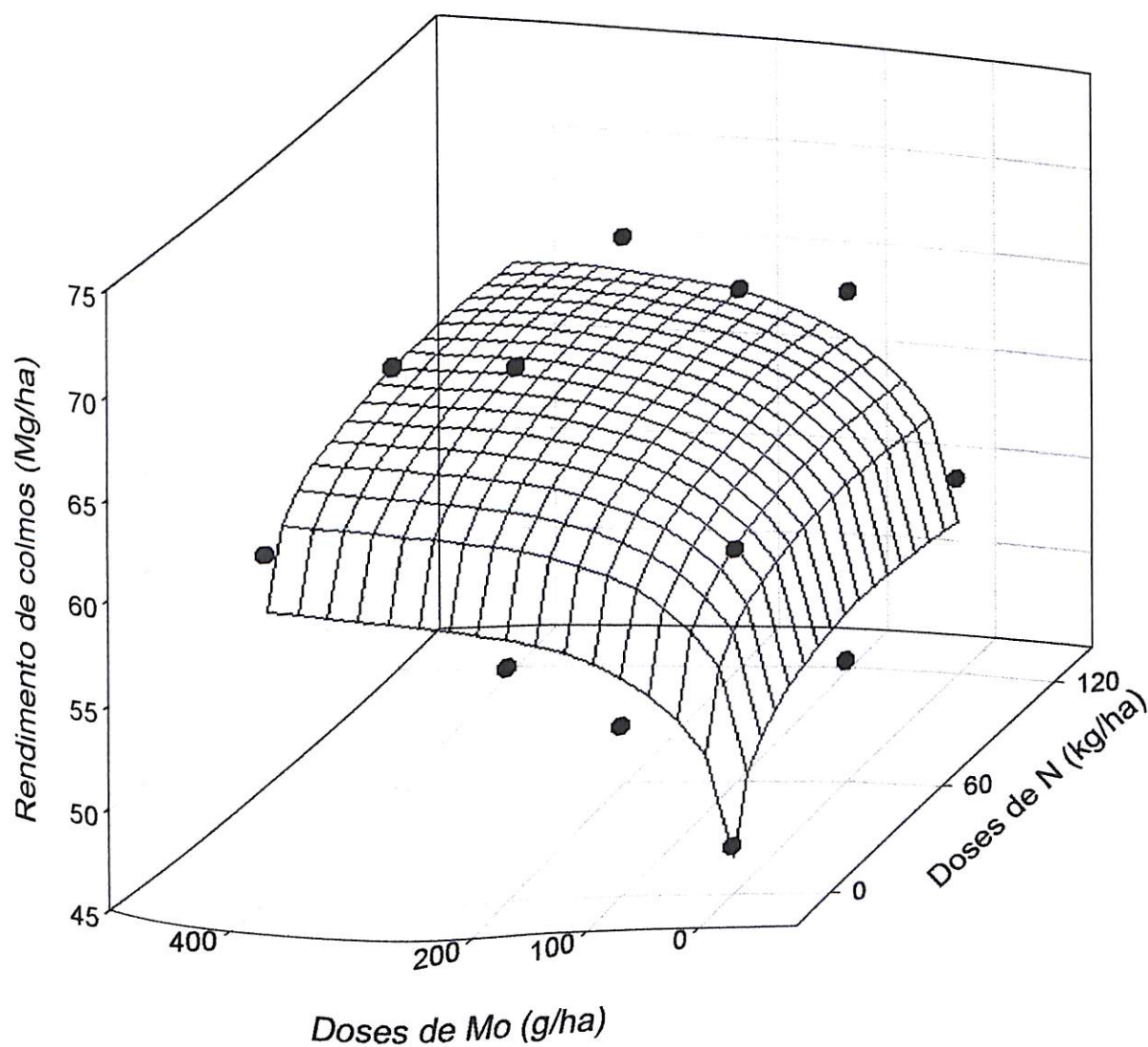


Figura 07 – Produtividade da cultura da cana-de-açúcar (Mg/ha), variedade RB 72454 em segundo ciclo cultural, influenciada pela aplicação de doses de N e de Mo estimada pela equação $\text{Rend} = 46,88 + 1,581^{**}\sqrt{N} + 1,219^{**}\sqrt{Mo} - 0,094^{ns}N - 0,031^{o}Mo$

$$R^2 = 0,72^{**}$$

^{ns} = Não significativo ao nível de 10% de probabilidade, pelo teste "t-student"

^{**} = Significativo ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste "t-student"

^o = Significativo ao nível de 10% de probabilidade, pelo teste "t-student"

das doses de N e de Mo para o máximo rendimento econômico da produção de colmos (Tabela 14). A combinação das doses 60,0 kg/ha de N e 120,0 g/ha de Mo e de 27,0 kg/ha de N e 200 g/ha de Mo apresentaram-se como as mais equilibradas para a MEE da lavoura.

Tabela 14 – Modelos matemáticos aproximativos ajustados para estimativa de doses recomendáveis de N e de Mo para a maximização da produtividade econômica (MEE) da variedade RB 72454.

Doses de N e Mo (soma)	Modelo matemático aproximativo	R ²
40	$Y = 53,58 + 0,38^{**}N - 0,010^{**}N^2$	0,98**
80	$Y = 55,6 + 0,25^{**}N - 0,004^{**}N^2$	0,98**
120	$Y = 56,9 + 0,19^{**}N - 0,002^{**}N^2$	0,98**
CRO	$N = 0,26 + 1,03Mo - 0,005Mo^2$	†
Y _{máximo}	$Y = 53,44 + 0,22Mo - 0,0014Mo^2$	†

Y = Rendimento de colmos estimado (Mg/ha)

** = Significativo ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste "t-student"

† = Não estimado

Estas combinações de doses significam que a dose recomendável de N para a MEE da lavoura neste estudo, pode ser diminuída à metade através da elevação da dose de Mo aplicada. A dose de 60 kg/ha de N, a qual é recomendada para lavouras de cana-de-açúcar após o primeiro ciclo (socarias) na região de Campos dos Goytacazes (Azeredo et al., 1986), sendo diminuída para 50% pela aplicação de Mo na dosagem adequada pode significar uma economia de 54,45 reais por hectare, considerando-se o custo de 0,66 dólares o kilograma de N na forma de uréia, de acordo com os resultados deste estudo. A aplicação de 300 g/ha de Mo por pulverização foliar mecanizada, realizada pela Usina Santa Cruz S.A, na região da baixada no delta do Rio Paraíba do Sul, em Campos dos Goytacazes no ano de 2000, apresentou custo aproximado de 10,0 reais por hectare (Hugenim, F. - Usina Santa Cruz S/A, comunicação pessoal), causando uma economia líquida de 45 reais por hectare nos custos anuais de produção da lavoura. Este valor poderia ser investido em aplicação foliar de outros micronutrientes além do Mo, uma vez que Reis Jr. (1999) ao avaliar o estado nutricional das lavouras na mesma região canavieira observou que os micronutrientes cobre (Cu) e o zinco (Zn) apresentaram-se com os mais limitantes, além do nitrogênio (N). Ainda, no estudo de Reis Jr. (1999) não foram feitas avaliações da nutrição das plantas pelo boro (B) o qual

também não é recomendada a sua aplicação dentro do manejo da lavoura de cana-de-açúcar na região canavieira de Campos dos Goytacazes.

Avaliando-se os efeitos isolados do N em cada um dos quatro níveis de Mo observou-se que, na lavoura em estudo, o efeito da aplicação de N sem adição de Mo apresentou os menores rendimentos, evidenciando a limitação da disponibilidade deste micronutriente no solo. Neste caso, a aplicação de 120 kg/ha de N isoladamente foi equivalente à aplicação de 60 kg/ha de N em combinação com o primeiro nível de aplicação de Mo (Figura 08).

Além disso, os resultados observados pelo efeito isolado do Mo dentro dos níveis de N, reforça a importância da adoção da prática de aplicação de Mo na cultura da cana-de-açúcar, uma vez que a aplicação da maior dose de Mo (400 g/ha) ocasionou produtividade significativamente maior que aplicação de 120 kg/ha de N, ambos isoladamente, neste estudo (Figura 09).

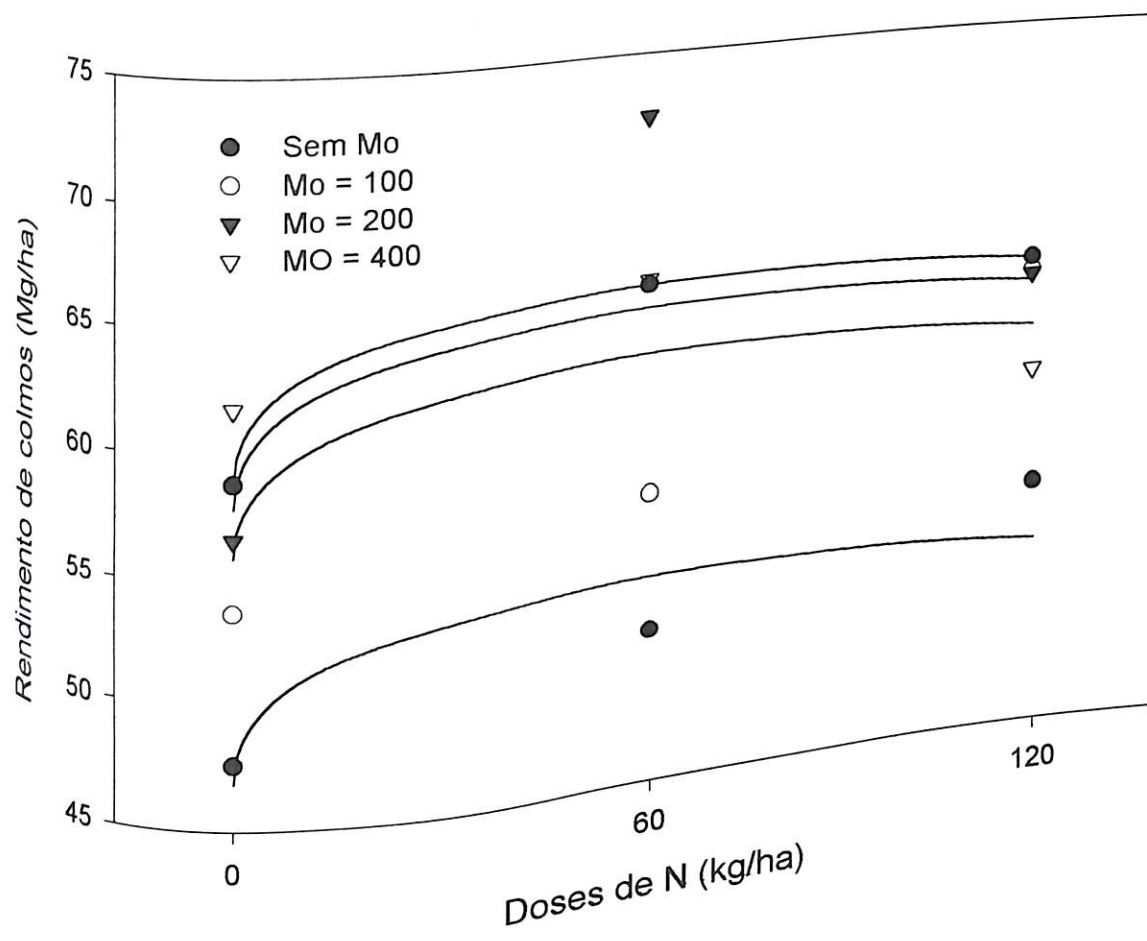


Figura 08 – Cortes ortogonais na superfície de resposta às doses de N e de Mo, considerando-se os efeitos do N dentro de cada nível de Mo

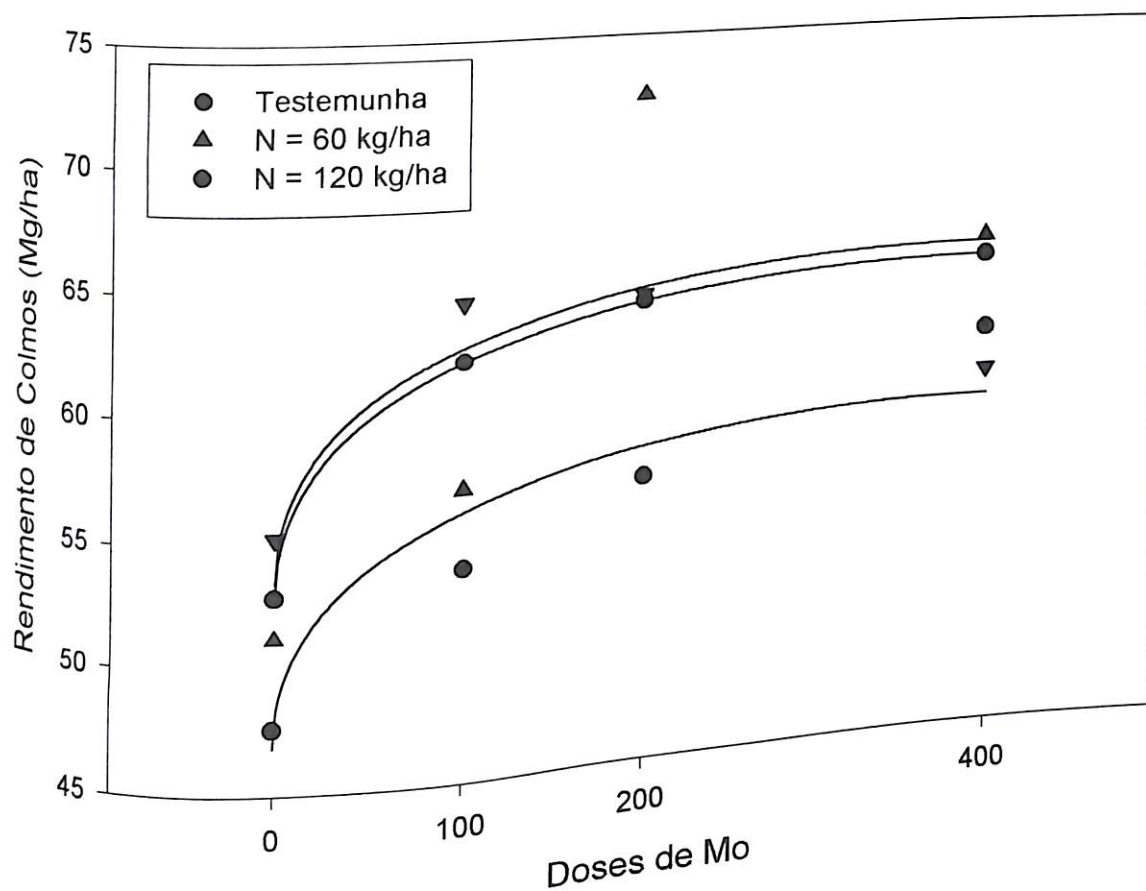


Figura 09 – Cortes ortogonais na superfície de resposta às doses de N e de Mo, considerando-se os efeitos Mo dentro de cada nível de N

5.4 ASPECTOS NUTRICIONAIS

5.4.1 EFEITO DA APLICAÇÃO DE N E DE MO E NÍVEIS CRÍTICOS DE Mo E DE N NAS PLANTAS DE CANA-DE-AÇÚCAR

O efeito da aplicação de N e de Mo na nutrição nitrogenada das plantas de cana-de-açúcar foi avaliado inicialmente aos 30 dias após a aplicação dos tratamentos através da análise do teor de N nas folhas +3 (Tabela 15). Desta forma, pode-se observar que a nutrição nitrogenada foi positivamente influenciada imediatamente após a aplicação dos dois nutrientes às plantas. Apesar de a magnitude das diferenças entre os teores de N observadas nas plantas não ter sido marcante, uma vez que os teores variaram entre 1,8 a 2,05 dag/kg nos tratamentos testemunha e a combinação das doses 60 e 120 kg/ha de N com as máximas doses de Mo aplicadas, respectivamente, estes resultados

evidenciaram a importância da aplicação do Mo juntamente para a nutrição nitrogenada da cana-de-açúcar, neste estudo. (Tabela 15).

Tabela 15 – Influência da aplicação de doses de N e de Mo no teor de N na folha +3 das plantas de cana-de-açúcar aos 90 dias de cultivo (30 dias após aplicação)

Doses de Molibdênio					
Doses de N kg/ha	g/ha				Efeito N
	0	100	200	400	
	dag/kg				
0	1,81	1,80	1,80	1,86	1,82
60	1,86	1,85	1,92	1,94	1,89
120	1,93	1,92	2,05	1,94	1,96
Efeito Mo	1,87	1,86	1,92	1,91	
Teste F	** Significativo ao nível de 1% de probabilidade				
Bloco	QM	* Significativo ao nível de 5% de probabilidade			
Mo	0,00923**	ns Não significativo ao nível de 10%			
N	0,01199*				
Mo x N	0,0827**				
	0,00601 ^{ns}				
CV%	3,24				

As concentrações de N nas folhas de cana-de-açúcar aos oito meses de cultivo não foram influenciadas de forma significativa pelas aplicações das doses de N e de Mo (Tabela 16), portanto, considera-se a máxima concentração observada, 1,10 dag/kg de N como a concentração crítica de N para a máxima produtividade da cultura, neste estudo. Por outro lado, as concentrações de Mo nas folhas foram significativamente afetadas pela aplicação apenas do Mo, isoladamente, e apresentou uma tendência de ser influenciada de forma diferenciada pelas doses de Mo em função do nível de N-fertilizante, verificada pela interação entre os fatores em estudo (Tabela 17, Figura 10). O modelo matemático ajustado para o efeito das doses de Mo sobre os teores de Mo nas plantas demonstra que para a obtenção da máxima eficiência física da produção de colmos (65,6 Mg/ha) com a aplicação da dose de 392,2 g/ha de Mo o nível crítico de Mo nas folhas de cana-de-açúcar foi de 0,39 g/kg. O nível crítico para a obtenção da máxima eficiência econômica (62,5 Mg/ha) obtida pelas combinações equilibradas das doses 60,0 kg/ha de N e 120,0 g/ha de Mo e de 27,0 kg/ha de N e 200 g/ha de Mo, foi observado em duas concentrações de Mo, 0,25 e 0,30 mg/kg de Mo (Figuras 05 e 08).

Tabela 16- Influência da aplicação de doses de N e de Mo no teor de N nas folhas +3 das plantas de cana-de-açúcar, aos 240 dias de cultivo

das plantas de cana-de-açúcar, aos 240 dias de					
Doses de Molibdênio					
Doses de N kg/ha	g/kg				Efeito N
	0	100	200	400	
	dag/kg				
			0,95	0,90	0,90
0	0,93	0,82	1,10	0,90	1,00
60	1,10	0,90	0,93	0,95	0,97
120	1,00	0,90			
			0,99	0,91	
Efeito Mo	1,01	0,87			
Teste F	QM	ns Não significativo ao nível de 10% de probabilidade, pelo teste F			
Bloco	0,0239				
Mo	0,0297 ^{ns}				
N	0,0233 ^{ns}				
Mo x N	0,0087 ^{ns}				
CV%	12,78	variedade RB 72 454			

Tabela 17 - Teores de Molibdênio nas folhas da cana-de-açúcar, variedade RB 72 454 cultivada em diferentes níveis de aplicação de doses de Mo e de N

Doses de Molibdênio					
Doses de N kg/ha	g/ha				Efeito N
	0	100	200	400	
	dag/kg				
			0,31	0,38	0,28
			0,28	0,31	0,25
			0,28	0,44	0,30
0	0,20	0,21			
60	0,17	0,24			
120	0,21	0,25			
			0,29	0,38	
Efeito Mo	0,19	0,23			
Teste F	QM	*, °, Significativo ao nível de 1% e de 10% de probabilidade, respectivamente ns Não significativo ao nível de 10% de probabilidade, pelo teste F			
Bloco	0,0239 ^{ns}				
Mo	0,596 ^{**}				
N	0,053 ^{ns}				
Mo x N	0,187 ^o				
CV%	45,78				

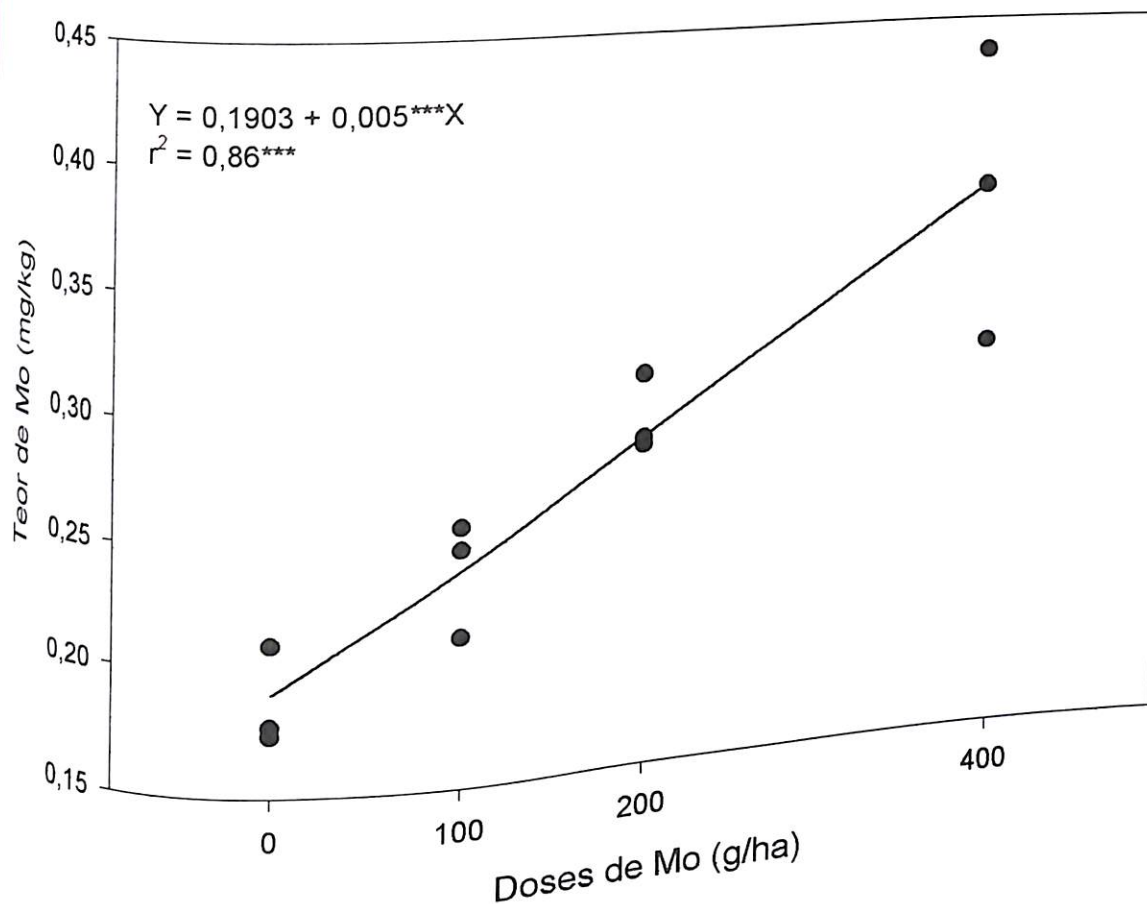


Figura 10 – Teores de Mo observados nas folhas aos oito meses de cultivo da lavoura de cana-de-açúcar influenciados pelas doses de Mo e de N aplicadas

Outra estratégia para se obter o nível crítico de Mo é a avaliação da produtividade da lavoura em relação aos teores de Mo. O modelo matemático ajustado evidencia que a concentração crítica de Mo nas folhas de cana-de-açúcar para a MEF da lavoura foi a de 0,32 mg/kg de Mo (Figura 11). As concentrações adequadas de Mo nas folhas para a MEE (62,5 Mg/ha) foram 0,22 e 0,45 mg/kg, respectivamente. Estas concentrações de Mo foram consideradas neste estudo como limites inferiores e superiores da faixa adequada de Mo para a máxima produtividade da lavoura, neste estudo (Figura 11). Ainda considerando-se a Figura 06, estimou-se como concentração crítica para a deficiência e do excesso de Mo para a produtividade 50% menor que a MEF (0,11 mg/kg de Mo e 0,56 mg/kg de Mo, respectivamente). Estes valores não foram estimados dentro do espaço experimental, sendo, portanto, considerando como limite inferior e superior os teores observados 0,17 e 0,43 mg/kg de Mo, respectivamente.

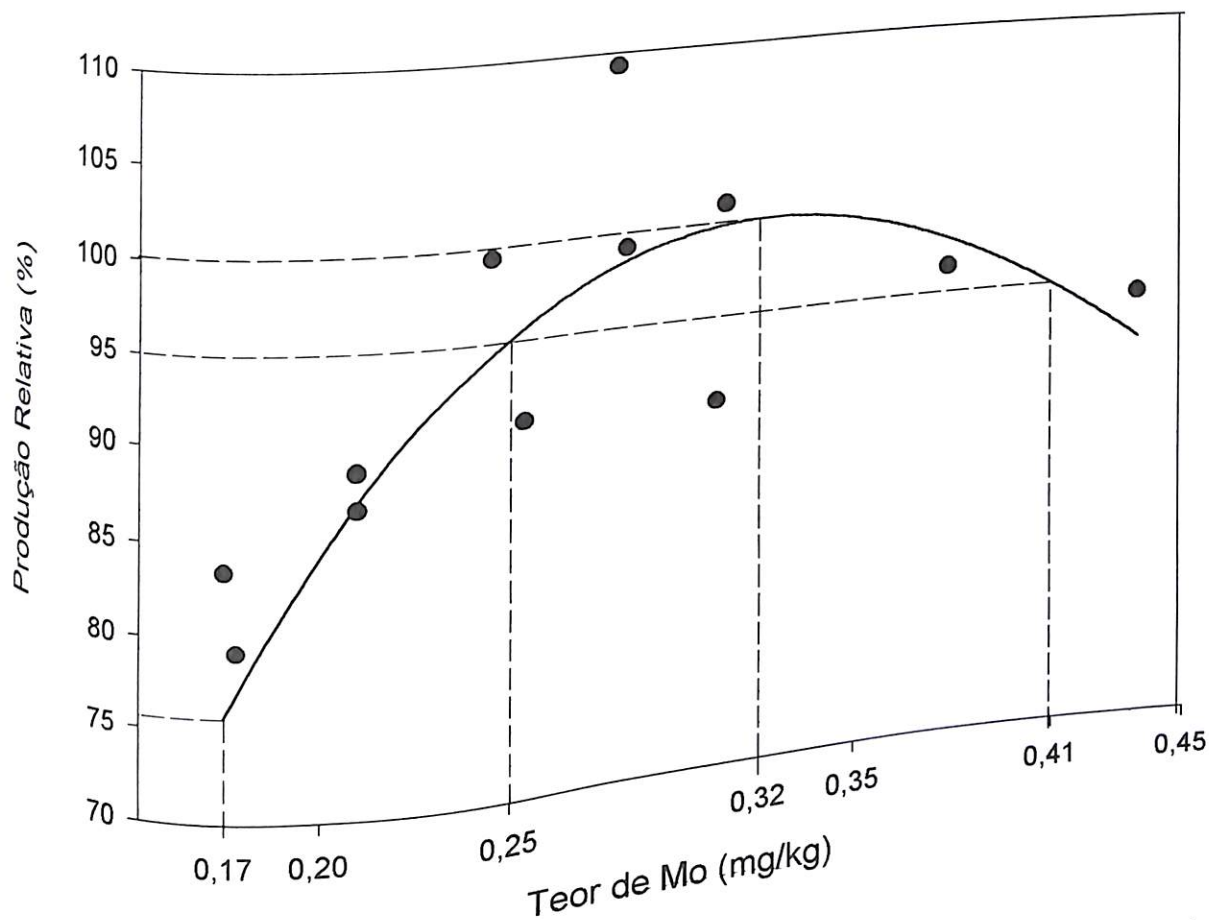


Figura 11 – Níveis críticos de Mo nas folhas de cana-de-açúcar para a produtividade de colmos, aos oito meses de cultivo da lavoura

Os trabalhos realizados para o estabelecimento dos níveis críticos de Mo para cultura da cana-de-açúcar no Brasil ainda são escassos, possivelmente pela inconsistência dos valores encontrados, pela dificuldade da detecção de concentrações mínimas limitantes deste micronutriente nas plantas. Kondorffer et al. (1995), em estudo avaliando o estado nutricional da cana-de-açúcar, ponderaram que a concentração crítica de Mo poderia ser de 0,15 a 0,30 mg/kg, valor coincidente com os observados neste estudo, apesar de aquele ser apenas uma estimativa especulatória, para lavoura em primeiro ciclo cultural (Malavolta et al. 1997). Estes valores de nível crítico são limitados a uma condição local e não devem ser extrapoladas para o diagnóstico do estado nutricional das plantas de cana-de-açúcar de forma generalizada, pois o mesmo sofre influência das condições nas quais a lavoura é manejada, tais como as características e propriedades do solo, disponibilidade de outros nutrientes,

principalmente N-mineral. No presente estudo (capítulo II) plantas que apresentaram teores de Mo entre 0,15 e 0,70 mg/kg apresentaram produtividades acima de 100 Mg/ha, o que implica que para o Mo a avaliação o uso de teores de Mo nas plantas para diagnosticar o estado nutricional das plantas apresenta caráter local e deve ser estabelecido de acordo com as condições de manejo das lavouras. Portanto, os valores de nível crítico de Mo observados neste estudo são validados para as lavouras da região de Campos dos Goytacazes cultivadas em solos da classe cambissolo, e foram observados em apenas um ano agrícola (safra 1998/1999), restringindo-se às condições climáticas do mesmo ano (Figura 06).

Agarwalla et al. (1985) evidenciaram que a concentração adequada de Mo nas folhas de cana-de-açúcar encontrou-se dentro da faixa de 0,40 a 0,75 em plantas aos seis meses de idade e 1,34 a 1,74 aos doze meses de idade, em uma variedade Indiana cultivada em areia adicionada de solução nutritiva, com elevados teores de N-NO_3^- . Além disso, evidenciaram que a concentração crítica para a observação de sintomas de deficiência de Mo nas plantas ocorreu entre 0,02 a 0,15 mg/kg de Mo nas folhas. Chatterjee et al. (1999) em estudo que avaliou o efeito de concentrações crescentes de Mo na solução nutritiva nas mesmas condições de estudo de Agarwalla et al. (1985), observaram as mesmas faixas críticas de Mo para a acumulação de matéria seca e atividade de enzimas como a redutase do Nitrato, fosfatases, entre outras. Coelho et al. (2001) observou que a faixa crítica adequada de Mo para a cana-de-açúcar na variedade brasileira RB 72454, variaram entre 0,14 e 0,40 mg/kg. Os autores ainda enfatizaram que a concentração crítica de Mo dentro desta faixa variou em função da concentração de N na solução nutritiva, sendo os limites inferior e superior observados em concentrações de 160 mg/L e 20 mg/L de N-NO_3^- , respectivamente.

As concentrações menores da faixa crítica de Mo observada neste estudo em relação aos estudos citados acima pode ser devido a influência das características e propriedades do solo que atuam na capacidade tampão do solo utilizado neste estudo em relação à areia que tem capacidade tampão nula. Neste sentido, a faixa crítica estabelecida neste estudo aplica-se a solos com características e propriedades, que afetam a capacidade tampão, semelhantes ao da lavoura em estudo. Outro fator que parece ser influente no estabelecimento da concentração crítica de Mo para a cana-de-açúcar é o nível de N disponível no solo, seja "nativo" ou proveniente da aplicação de fontes fertilizantes.

Outro aspecto importante relativo ao nível crítico de Mo para as plantas de cana-de-açúcar neste estudo é evidenciado na figura 12, a qual estabelece a relação da produtividade de colmos em função das concentrações observadas de Mo dentro de cada nível de N-fertilizante, uma vez que não se observou efeito da aplicação de N-fertilizante isoladamente, e o efeito da interação entre as doses de N e de Mo, foi significativo ($p < 0,10$) (Tabela 17). De acordo com os modelos matemáticos ajustados a exigência em Mo pela planta poderia estar ligada ao nível de N no solo disponível para a planta. Neste raciocínio, para a observação do mesmo efeito na elevação da produtividade da lavoura, as plantas que não receberam aplicação de N fertilizante, e hipoteticamente dependendo mais do processo de FBN necessitariam de uma maior concentração de Mo nas folhas em relação àquelas que receberam N-fertilizante (Figura 12).

Ao nível fisiológico, é necessária a admissão do modelo de nutrição nitrogenada da planta de cana-de-açúcar com duas fontes potenciais: N-mineral do solo na forma de NO_3^- e a atividade de FBN pelas bactérias diazotróficas associadas à planta. Neste sentido, especula-se que de acordo com a fração da contribuição destas duas fontes para a nutrição nitrogenada da planta, os processos de redução inicial do NO_3^- , pela redutase do nitrato na planta e, da redução do N_2 atmosférico, pela nitrogenase nas bactérias diazotróficas, haveria modificação da exigência em Mo na planta. Esta afirmação baseia-se na diferença de exigência em Mo pelas duas enzimas citadas acima (redutase do nitrato 0,04 a 0,06%, nitrogenase 0,07 a 0,08% segundo Shah et al. 1984) e, considerando-se a atividade altamente específica do Mo em plantas e microrganismos, plantas que recebem maior parte do N proveniente da FBN apresentariam maior exigência em Mo e por isso, para a mesma quantidade de N acumulado apresentar maiores concentrações de Mo que aquelas que recebem todo ou a maior parte do N proveniente do solo (Figura 12).

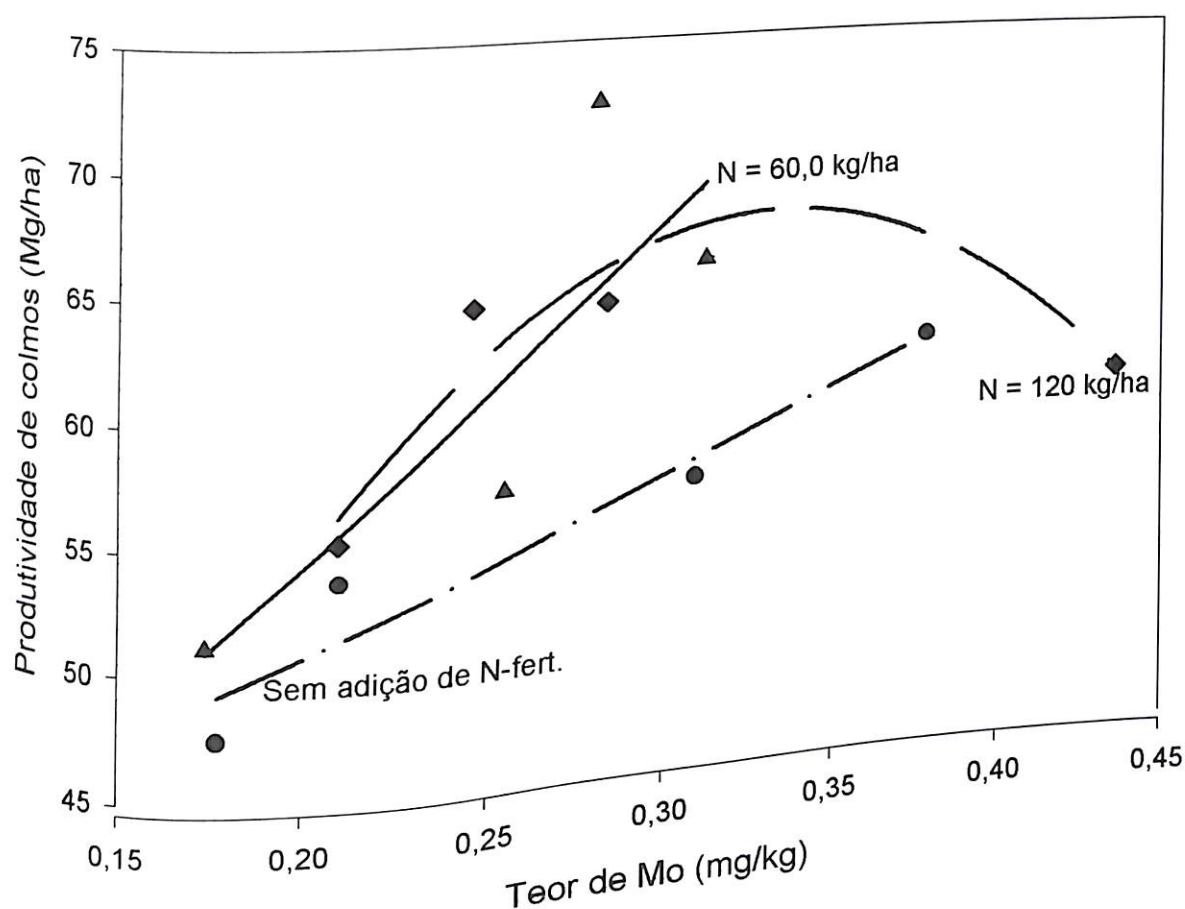


Figura 12 – Concentrações de Mo nas folhas de cana-de-açúcar para a produtividade de colmos aos oito meses de cultivo da lavoura, em função do nível de N-fertilizante aplicado ao solo.

5.4.2 APROVEITAMENTO DO N-FERTILIZANTE, FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE N_2 E DINÂMICA DE POPULAÇÕES DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ASSOCIADAS À CANA-DE-AÇÚCAR

A eficiência de aproveitamento do N-fertilizante aplicado, estimado pela técnica de diluição isotópica de ^{15}N no N-fertilizante aplicado, foi estimada em 50%, independentemente da aplicação de Mo, no nível de 60 kg/ha de N aplicado (Tabela 18). Considerando os estudos de eficiência de aproveitamento do N realizados tanto em condições controladas como ao nível do campo em diversas culturas, (Urquiaga et al., 2000) estes valores podem ser considerados elevados, mas demonstram que o manejo da fertilização nitrogenada da cultura da cana-de-açúcar, como em outras, ainda necessita de novas alternativas para o aproveitamento mais eficiente do N-fertilizante. De acordo com a Tabela 20 a quantidade de N acumulada pela planta proveniente do fertilizante foi de 30 kg/ha, o que equivale a apenas 50%, em média, do N exportado da lavoura por ocasião da colheita dos colmos (Tabela 19). Além disso, apesar de a colheita ter sido feita com a lavoura não queimada, esta prática ainda é maciçamente adotada nas

lavouras de cana-de-açúcar do Estado do Rio de Janeiro, onde todo N acumulado na palhada e parte do que é acumulado nas folhas (bandeiras) é perdido com a combustão, aumentando a quantidade de N exportado da lavoura por colheita realizada (Tabelas 19 e 20).

Tabela 18 – Eficiência de aproveitamento do N-fertilizante (Sulfato de amônio) na dose de 60,0 kg/ha, influenciada pela aplicação de doses de Mo.

Doses de Mo g/ha	Átomos em excesso de ^{15}N dag/kg (%)		EAF dag/kg (%)
	N-fertilizante	Planta	
Testemunha	1,000	0,517 $\pm$ 0,461	48,2
100	1,000	0,489 $\pm$ 0,334	51,8
200	1,000	0,486 $\pm$ 0,422	51,9
400	1,000	0,447 $\pm$ 0,229	55,3

Este conteúdo de N exportado na ocasião da colheita que excede ao aproveitado do N fertilizante e ao total nos tratamentos onde o mesmo não foi aplicado, é admitida atualmente ser proveniente de duas fontes prováveis, o N “nativo” do solo, disponível para as plantas, o qual pode ter parte de resíduo de N-fertilizante da safra anterior e da contribuição da fixação biológica de N_2 atmosférico associada à cultura. Os resultados observados por Resende et al., (1999) que demonstraram em experimento em longo prazo com a cultura da cana-de-açúcar, que a remoção de N do sistema solo/planta continua damente por 16 anos, sem a compensação desta remoção por aplicação de fertilizante nitrogenado não ocasionou empobrecimento do solo neste nutriente, evidenciando que a FBN pode estar contribuindo efetivamente para a compensação desta remoção do N dentro do manejo da lavoura.

A contribuição da FBN para as plantas foi avaliada nos tratamentos onde não aplicou-se o N-fertilizante ao solo através da técnica de abundância natural de ^{15}N . Os resultados observados demonstram que a contribuição da FBN para as plantas foi de 40%, em média, independente da aplicação de Mo (Tabela 21). No entanto, como o conteúdo de N acumulado pelas plantas foi aumentado pela aplicação de Mo, estima-se que a contribuição da FBN para o total de N acumulado nas plantas de cana-de-açúcar foi significativamente influenciada pela aplicação de Mo. Utilizando-se os conteúdos de N acumulados na parte aérea das plantas de cana-de-açúcar (Colmos+Bandeiras+Palhada) (Tabela 20) observou-se que o conteúdo de N acumulado na parte aérea das plantas de cana-de-açúcar proveniente do processo de FBN equivaleu

ao exportado pelos colmos das plantas e equivaleu àquela exportada pela ocasião da colheita dos colmos nos tratamentos onde foi avaliada (Tabelas 19 e 21). Além disso, não se quantificou o conteúdo de N acumulado na biomassa das raízes e no solo proveniente da morte e exudação das mesmas, podendo então a contribuição da FBN ter superado o conteúdo de N exportado nos colmos, corroborando os resultados observados por Resende (2000).

Resende (2000) também utilizando a técnica de abundância natural de ^{15}N para quantificar a contribuição da FBN na mesma variedade de cana-de-açúcar (RB 72454) cultivada em solo extremamente pobre em N ($<0,1 \text{ g/kg}$), encontrou valores semelhantes de contribuição da FBN para as plantas em condições otimizadas e Boddey et al. (2001), em condições de campo, estimaram que esta contribuição variou entre 25 e 50% de acordo com as condições de manejo da lavoura.

Tabela 19 – N acumulado nos colmos da cana-de-açúcar, variedade RB 72 454 cultivada em diferentes níveis de aplicação de doses de Mo e de N

Tabela 19 - N acumulado nos diferentes níveis de aplicação de N, em milho, cultivada em diferentes níveis de aplicação de Mo					
Doses de N kg/ha	Doses de Molibdênio				Efeito N
	g/ha		kg/ha		
	0	100	200	400	
0	41,86	40,63	49,46	58,18	47,53
60	40,86	65,58	72,25	49,93	57,16
120	50,05	49,52	76,08	63,84	59,87
Efeito Mo	44,26	51,91	65,93	57,32	
Teste F	*, ** Significativo ao nível de 1% e 5% de probabilidade, respectivamente				
Bloco	ns Não significativo ao nível de 10% de probabilidade, pelo teste F				
Mo	QM				
N	2053,04**				
Mo x N	2528,63**				
	2236,60**				
	679,65 ^{ns}				
CV%	24,53				

Tabela 20 – N total acumulado pela parte aérea (colmos+bandeiras+palhada) na cana-de-açúcar, variedade RB 72 454, cultivada em diferentes níveis de aplicação de doses de Mo e de N.

aplicação de doses de Mo e de N.					
Doses de Molibdênio					
Doses de N kg/ha	g/ha				Efeito N
	0	100	200	400	
	kg/ha				
0	112,65	101,87	116,33	132,41	115,82
60	106,52	137,75	164,73	132,62	135,41
120	117,60	129,73	161,76	145,52	138,65
Efeito Mo	112,26	123,12	147,61	136,85	
Teste F	QM	*, ** Significativo ao nível de 1% e 5% de probabilidade, respectivamente			
Bloco	1053,04*	ns Não significativo ao nível de 10%, pelo teste F			
Mo	2538,63**				
N	2236,6**				
Mo x N	679,65 ^{ns}				
CV%	21,31				
ênio (%Nd _f a) estimada pela					

Tabela 21 – Contribuição da fixação biológica de nitrogênio (%Ndfa) estimada pela técnica de $\delta^{15}\text{N}$, nos tratamentos que receberam apenas a aplicação de Mo e o tratamento testemunha.

Doses de Mo	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	%Ndfa
g/ha		dag/kg
Testemunha	4,40 ± 0,28	41,72*
100	4,90 ± 0,20	35,10*
200	4,39 ± 0,29	41,9*
400	4,73 ± 0,43	37,35*
Plantas Testemunhas		
<i>Digitaria insularis</i> ("Capim flexa")	9,80 ± 1,63	
<i>Cyperus iria</i> ("Tiririca")	6,53 ± 0,96	
<i>Cynodon dactylon</i> ("Grama seda")	9,91 ± 0,07	
"Cipó Cravo"	7,40 ± 0,03	
<i>Portulaca oleracea</i> ("Beldroega")	7,37 ± 0,25	
Média	8,02 ± 0,62	

* = Valores calculados com as médias do $\delta^{15}\text{N}$ nas plantas testemunhas e na cana-de-açúcar significativamente diferentes pelo teste "t-student".

As figuras 13 e 14 expõem a dinâmica das populações das bactérias diazotróficas associadas às plantas de cana-de-açúcar, avaliadas no sistema radicular das plantas, em função da aplicação das doses de Mo nos diferentes níveis de N-fertilizante

aplicados. As populações de bactérias quantificadas em meio JNFb e LGI-P, nos quais podem ser quantificados os gêneros *Herbaspirillum* e *Azospirillum* e *Gluconacetobacter diazotrophicus*, respectivamente, (Dobereiner et al., 1992) foram positivamente influenciadas pela aplicação do Mo, isoladamente, e negativamente quando o Mo foi aplicado em conjunto com o N-fertilizante. Apesar da magnitude das variações no número de indivíduos nas populações destas bactérias ter sido discreta, porém significativa, estes efeitos podem ter elevada importância nos estudos da dinâmica de populações destas bactérias que têm como hipótese a importância destes microrganismos para a cultura da cana-de-açúcar, seja contribuindo para a nutrição nitrogenada através da FBN (Reis Jr, et al., 2000, Reis, et al. 2001, Almeida et al., 2001) ou agindo como promotoras do crescimento das plantas com a produção de substâncias com ação hormonal, melhoradoras da disponibilidade de nutrientes como o fósforo, entre outras.

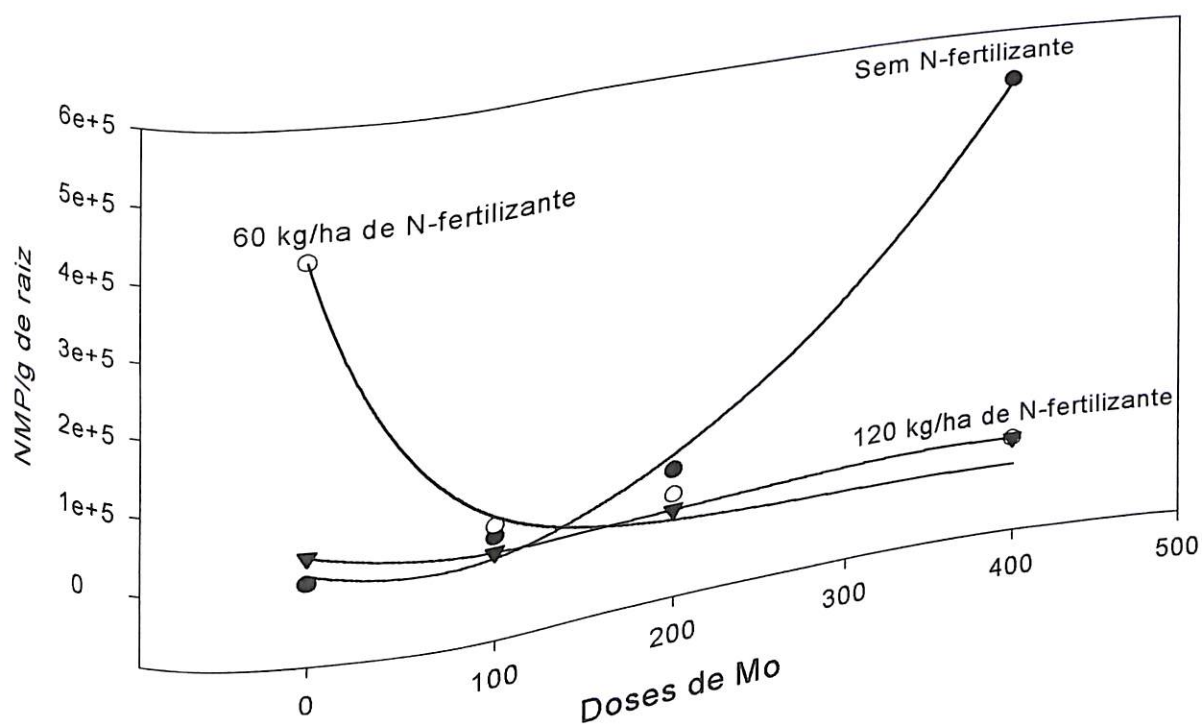


Figura 13 – Dinâmica de populações de bactérias diazotróficas (*Herbaspirillum* sp. *Azospirillum* spp.), associadas com as raízes das plantas de cana-de-açúcar aos oito meses de cultivo influenciadas, pela aplicação de doses de N e de Mo

Admitindo-se a elevada importância destas bactérias para as plantas de cana-de-açúcar, a aplicação de N-fertilizante na dose de 120 kg/ha independentemente da dose de Mo podem inibir a contribuição destas bactérias para a cultura da cana. Estudos de Mo podem inibir a contribuição destas bactérias para a cultura da cana. Estudos realizados por Reis Jr et al. (2000), Medeiros et al. (2000 e 2001) evidenciam que a aplicação de N-fertilizante apresenta tendência de causar efeito negativo nas populações dos mesmos gêneros de bactérias diazotróficas avaliados no presente estudo. Estes resultados demonstram a grande importância da avaliação da relação da dinâmica das populações destas bactérias e a nutrição mineral nitrogenada desta cultura, principalmente pela aplicação de N-fertilizante, para que se estabeleçam estratégias para exploração adequada do potencial destas bactérias na produtividade da cultura da cana-de-açúcar.

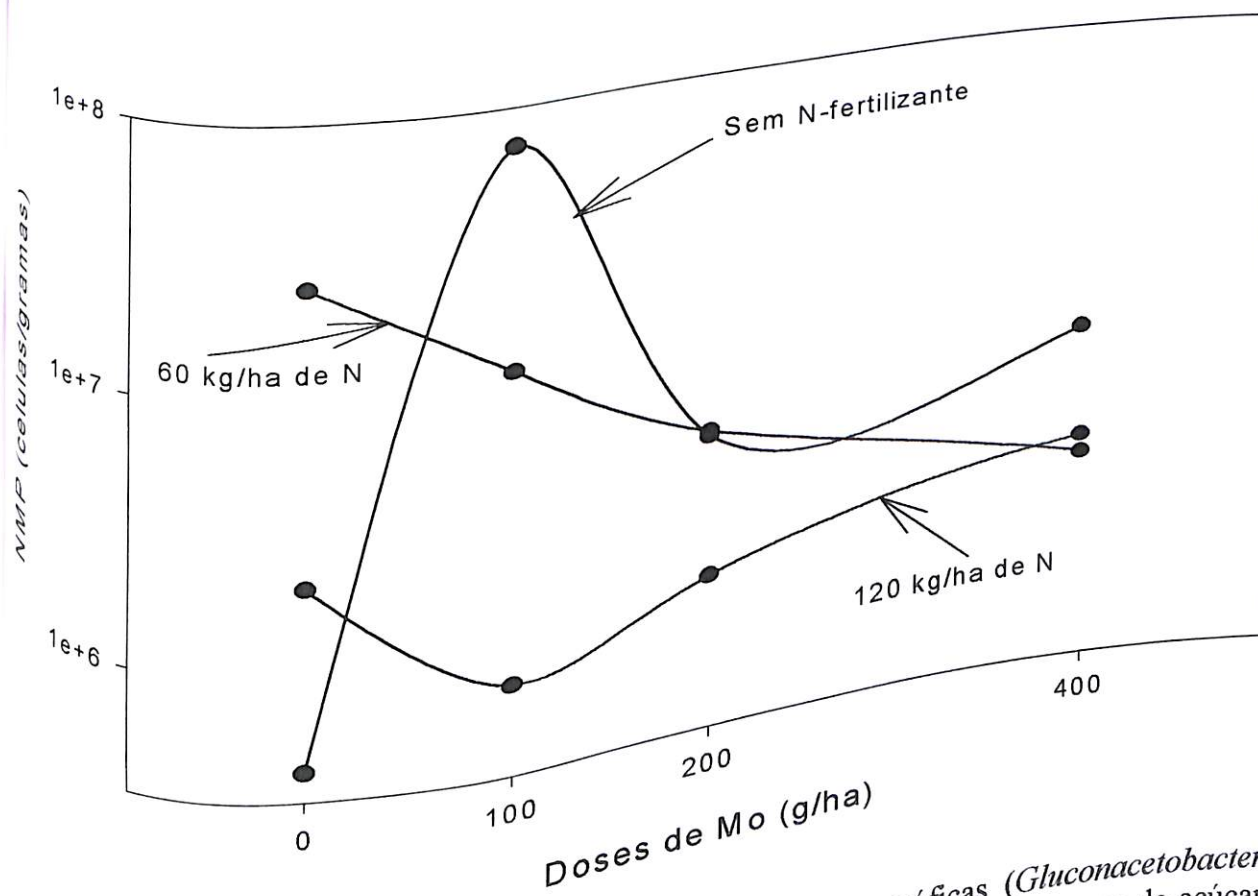


Figura 14 – Dinâmica de populações de bactérias diazotróficas (*Gluconacetobacter diazotrophicus*), associadas com as raízes das plantas de cana-de-açúcar aos oito meses de cultivo, influenciadas pela aplicação de doses de N e de Mo

5.4.3 ACUMULAÇÃO DE N E DE MO NA PARTE AÉREA DA CANA-DE-AÇÚCAR.

O conteúdo total de N acumulado pelas plantas de cana-de-açúcar em sua parte aérea (Colmos + Bandeiras + Palhada) variou entre 101,87 a 164,73 kg/ha, que corresponderam aos tratamentos testemunha e da combinação entre as doses de 200 g/ha de Mo e 60 kg/ha de N (Tabelas 20), que ocasionaram a menor e maior produtividade da lavoura, respectivamente (Tabelas 13). Em geral, com a mesma quantidade de N acumulado na parte aérea das plantas que receberam a dose de N equivalente a 60 kg/ha apresentaram maior produção de colmos que as observadas pela aplicação da dose equivalente a 120 kg/ha de N, quando combinadas com o Mo (Tabelas 13 e 20). Estes resultados evidenciam a importância do Mo para a utilização do N acumulado pela planta de forma eficiente para a elevação da produtividade da lavoura, ocasionando diminuição da necessidade de aplicação de N-fertilizante nesta cultura. Ainda, espera-se que a aplicação de baixas doses de N estimulem a contribuição deste processo, através do efeito positivo do N mineral no metabolismo energético da planta (principalmente o processo fotossintético), do qual as bactérias diazotróficas associadas às plantas dependem diretamente para a realização do processo de FBN.

A acumulação de Mo pela parte aérea das plantas de cana-de-açúcar neste estudo variou entre 6,0 e 21,4 g/ha, dos quais mais de 80% foi observado ser acumulado pela palhada das plantas (Tabelas 23, 24 e 25). Nos colmos, estimou-se que o conteúdo de N exportado em qualquer tratamento foi menor que quatro gramas por hectare, uma vez que a concentração deste micronutriente encontrou-se menor que o limite mínimo de detecção da técnica utilizada, 0,20 mg/kg de Mo. Um aspecto de relevância na acumulação de Mo nas plantas de cana-de-açúcar foi a acumulação substancial de Mo na palhada, uma vez que presumia-se que as características do Mo em relação à sua mobilidade nas plantas, a qual é considerada elevada, uma vez que os sintomas de deficiência deste micronutriente expressam-se nas partes mais jovens das plantas (Gupta, 1997). Possivelmente o processo de senescência das folhas mais velhas ocorreu em uma dinâmica que não permitiu que o Mo fosse translocado para as folhas mais novas eficientemente, processo que era esperado nos tratamentos onde se observou limitação deste micronutriente (Tabela 14).

Tabela 22 – Teores de Molibdênio na palhada da cana-de-açúcar, variedade RB 72 454, cultivada em diferentes níveis de aplicação de doses de Mo e de N, aos oito meses de cultivo.

oito meses de cultivo.					
Doses de Molibdênio					
Doses de N Kg/ha	g/ha				Efeito N
	0	100	200	400	
	dag/kg				
			0,50	0,60	0,53
0	0,43	0,59	1,05	0,77	0,60
60	0,35	0,22	0,72	0,96	0,72
120	0,56	0,65			
			0,76	0,78	
Efeito Mo	0,41	0,49			
Teste F	QM	*, ** Significativo ao nível de 1% e 5% de probabilidade, respectivamente			
Bloco	0,0422 ^{ns}	^{ns} Não significativo ao nível de 10%, pelo teste F			
Mo	0,3875*				
N	0,1967 ^{ns}				
Mo x N	0,1378 ^{ns}				
CV%	20,40				

Tabela 23 – Conteúdo de Molibdênio acumulado na bandeira da cana-de-açúcar, variedade RB 72 454, cultivada em diferentes níveis de aplicação de doses de Mo e de N.

variedade RB 72 454, cultivada em solo com teor médio de Mo e de N.					
Doses de N kg/ha	Doses de Molibdênio				Efeito N
			g/ha	400	
	0	100	200		
	g/ha				
0	0,66	0,73	1,00	1,46	0,96
60	0,47	1,19	1,18	1,38	1,06
120	0,61	1,00	1,30	1,74	1,16
Efeito Mo	0,58	0,97	1,16	1,53	
Teste F	*, ** Significativo ao nível de 1% e 5% de probabilidade, respectivamente				
Bloco	QM	ns Não significativo ao nível de 10% de probabilidade, pelo teste F			
Mo	0,1301 ^{ns}				
N	1,825***				
Mo x N	0,1393 ^{ns}				
	0,0634 ^{ns}				
CV%	32,84				

Tabela 24 – Conteúdo de Mo acumulado pela palhada na cana-de-açúcar, variedade RB 72 454, cultivada em diferentes níveis de aplicação de doses de Mo e de N, aos dez meses de cultivo (cana-soca).

aos dez meses de cultivo (cana-soca).					
Doses de Molibdênio					
Doses de N kg/ha	g/ha				Efeito N
	0	100	200	400	
	g/ha				
					6,54
0	5,28	7,05	6,35	7,49	8,30
60	3,61	2,08	16,73	10,77	9,13
120	6,79	7,98	10,00	11,76	
Efeito Mo	5,22	5,70	11,03	10,01	
Teste F	QM	*, ** Significativo ao nível de 1% e 5% de probabilidade, respectivamente			
Bloco	25,61 ^{ns}	^{ns} Não significativo ao nível de 10% de probabilidade, pelo teste F			
Mo	99,22*				
N	29,50 ^{ns}				
Mo x N	44,02 ^{ns}				
CV%	61,02				

Tabela 25 – Conteúdo de Molibdênio acumulado pela parte aérea da cana-de-açúcar, variedade RB 72 454, cultivada em diferentes níveis de aplicação de doses de Mo e de N, aos dez meses de cultivo.

variedade RB 72 454, 1974, 1975, 1976, 1977, 1978, 1979, 1980, 1981, 1982, 1983, 1984, 1985, 1986, 1987, 1988, 1989, 1990, 1991, 1992, 1993, 1994, 1995, 1996, 1997, 1998, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021, 2022, 2023, 2024, 2025, 2026, 2027, 2028, 2029, 2030, 2031, 2032, 2033, 2034, 2035, 2036, 2037, 2038, 2039, 2040, 2041, 2042, 2043, 2044, 2045, 2046, 2047, 2048, 2049, 2050, 2051, 2052, 2053, 2054, 2055, 2056, 2057, 2058, 2059, 2060, 2061, 2062, 2063, 2064, 2065, 2066, 2067, 2068, 2069, 2070, 2071, 2072, 2073, 2074, 2075, 2076, 2077, 2078, 2079, 2080, 2081, 2082, 2083, 2084, 2085, 2086, 2087, 2088, 2089, 2090, 2091, 2092, 2093, 2094, 2095, 2096, 2097, 2098, 2099, 2100, 2101, 2102, 2103, 2104, 2105, 2106, 2107, 2108, 2109, 2110, 2111, 2112, 2113, 2114, 2115, 2116, 2117, 2118, 2119, 2120, 2121, 2122, 2123, 2124, 2125, 2126, 2127, 2128, 2129, 2130, 2131, 2132, 2133, 2134, 2135, 2136, 2137, 2138, 2139, 2140, 2141, 2142, 2143, 2144, 2145, 2146, 2147, 2148, 2149, 2150, 2151, 2152, 2153, 2154, 2155, 2156, 2157, 2158, 2159, 2160, 2161, 2162, 2163, 2164, 2165, 2166, 2167, 2168, 2169, 2170, 2171, 2172, 2173, 2174, 2175, 2176, 2177, 2178, 2179, 2180, 2181, 2182, 2183, 2184, 2185, 2186, 2187, 2188, 2189, 2190, 2191, 2192, 2193, 2194, 2195, 2196, 2197, 2198, 2199, 2200, 2201, 2202, 2203, 2204, 2205, 2206, 2207, 2208, 2209, 2210, 2211, 2212, 2213, 2214, 2215, 2216, 2217, 2218, 2219, 2220, 2221, 2222, 2223, 2224, 2225, 2226, 2227, 2228, 2229, 2230, 2231, 2232, 2233, 2234, 2235, 2236, 2237, 2238, 2239, 2240, 2241, 2242, 2243, 2244, 2245, 2246, 2247, 2248, 2249, 2250, 2251, 2252, 2253, 2254, 2255, 2256, 2257, 2258, 2259, 2260, 2261, 2262, 2263, 2264, 2265, 2266, 2267, 2268, 2269, 2270, 2271, 2272, 2273, 2274, 2275, 2276, 2277, 2278, 2279, 2280, 2281, 2282, 2283, 2284, 2285, 2286, 2287, 2288, 2289, 2290, 2291, 2292, 2293, 2294, 2295, 2296, 2297, 2298, 2299, 2300, 2301, 2302, 2303, 2304, 2305, 2306, 2307, 2308, 2309, 2310, 2311, 2312, 2313, 2314, 2315, 2316, 2317, 2318, 2319, 2320, 2321, 2322, 2323, 2324, 2325, 2326, 2327, 2328, 2329, 2330, 2331, 2332, 2333, 2334, 2335, 2336, 2337, 2338, 2339, 2340, 2341, 2342, 2343, 2344, 2345, 2346, 2347, 2348, 2349, 2350, 2351, 2352, 2353, 2354, 2355, 2356, 2357, 2358, 2359, 2360, 2361, 2362, 2363, 2364, 2365, 2366, 2367, 2368, 2369, 2370, 2371, 2372, 2373, 2374, 2375, 2376, 2377, 2378, 2379, 2380, 2381, 2382, 2383, 2384, 2385, 2386, 2387, 2388, 2389, 2390, 2391, 2392, 2393, 2394, 2395, 2396, 2397, 2398, 2399, 2400, 2401, 2402, 2403, 2404, 2405, 2406, 2407, 2408, 2409, 2410, 2411, 2412, 2413, 2414, 2415, 2416, 2417, 2418, 2419, 2420, 2421, 2422, 2423, 2424, 2425, 2426, 2427, 2428, 2429, 2430, 2431, 2432, 2433, 2434, 2435, 2436, 2437, 2438, 2439, 2440, 2441, 2442, 2443, 2444, 2445, 2446, 2447, 2448, 2449, 2450, 2451, 2452, 2453, 2454, 2455, 2456, 2457, 2458, 2459, 2460, 2461, 2462, 2463, 2464, 2465, 2466, 2467, 2468, 2469, 2470, 2471, 2472, 2473, 2474, 2475, 2476, 2477, 2478, 2479, 2480, 2481, 2482, 2483, 2484, 2485, 2486, 2487, 2488, 2489, 2490, 2491, 2492, 2493, 2494, 2495, 2496, 2497, 2498, 2499, 2500, 2501, 2502, 2503, 2504, 2505, 2506, 2507, 2508, 2509, 2510, 2511, 2512, 2513, 2514, 2515, 2516, 2517, 2518, 2519, 2520, 2521, 2522, 2523, 2524, 2525, 2526, 2527, 2528, 2529, 2530, 2531, 2532, 2533, 2534, 2535, 2536, 2537, 2538, 2539, 2540, 2541, 2542, 2543, 2544, 2545, 2546, 2547, 2548, 2549, 2550, 2551, 2552, 2553, 2554, 2555, 2556, 2557, 2558, 2559, 2560, 2561, 2562, 2563, 2564, 2565, 2566, 2567, 2568, 2569, 2570, 2571, 2572, 2573, 2574, 2575, 2576, 2577, 2578, 2579, 2580, 2581, 2582, 2583, 2584, 2585, 2586, 2587, 2588, 2589, 2590, 2591, 2592, 2593, 2594, 2595, 2596, 2597, 2598, 2599, 2600, 2601, 2602, 2603, 2604, 2605, 2606, 2607, 2608, 2609, 2610, 2611, 2612, 2613, 2614, 2615, 2616, 2617, 2618, 2619, 2620, 2621, 2622, 2623, 2624, 2625, 2626, 2627, 2628, 2629, 2630, 2631, 2632, 2633, 2634, 2635, 2636, 2637, 2638, 2639, 2640, 2641, 2642, 2643, 2644, 2645, 2646, 2647, 2648, 2649, 2650, 2651, 2652, 2653, 2654, 2655, 2656, 2657, 2658, 2659, 2660, 2661, 2662, 2663, 2664, 2665, 2666, 2667, 2668, 2669, 2670, 2671, 2672, 2673, 2674, 2675, 2676, 2677, 2678, 2679, 2680, 2681, 2682, 2683, 2684, 2685, 2686, 2687, 2688, 2689, 2690, 2691, 2692, 2693, 2694, 2695, 2696, 2697, 2698, 2699, 2700, 2701, 2702, 2703, 2704, 2705, 2706, 2707, 2708, 2709, 2710, 2711, 2712, 2713, 2714, 2715, 2716, 2717, 2718, 2719, 2720, 2721, 2722, 2723, 2724, 2725, 2726, 2727, 2728, 2729, 2730, 2731, 2732, 2733, 2734, 2735, 2736, 2737, 2738, 2739, 2740, 2741, 2742, 2743, 2744, 2745, 2746, 2747, 2748, 2749, 2750, 2751, 2752, 2753, 2754, 2755, 2756, 2757, 2758, 2759, 2760, 2761, 2762, 2763, 2764, 2765, 2766, 2767, 2768, 2769, 2770, 2771, 2772, 2773, 2774, 2775, 2776, 2777, 2778, 2779, 2780, 2781, 2782, 2783, 2784, 2785, 2786, 2787, 2788, 2789, 2790, 2791, 2792, 2793, 2794, 2795, 2796, 2797, 2798, 2799, 2800, 2801, 2802, 2803, 2804, 2805, 2806, 2807, 2808, 2809, 2810, 2811, 2812, 2813, 2814, 2815, 2816, 2817, 2818, 2819, 2820, 2821, 2822, 2823, 2824, 2825, 2826, 2827, 2828, 2829, 2830, 2831, 2832, 2833, 2834, 2835, 2836, 2837, 2838, 2839, 2840, 2841, 2842, 2843, 2844, 2845, 2846, 2847, 2848, 2849, 2850, 2851, 2852, 2853, 2854, 2855, 2856, 2857, 2858, 2859, 2860, 2861, 2862, 2863, 2864, 2865, 2866, 2867, 2868, 2869, 2870, 2871, 2872, 2873, 2874, 2875, 2876, 2877, 2878, 2879, 2880, 2881, 2882, 2883, 2884, 2885, 2886, 2887, 2888, 2889, 2890, 2891, 2892, 2893, 2894, 2895, 2896, 2897, 2898, 2899, 2900, 2901, 2902, 2903, 2904, 2905, 2906, 2907, 2908, 2909, 2910, 2911, 2912, 2913, 2914, 2915, 2916, 2917, 2918, 2919, 2920, 2921, 2922, 2923, 2924, 2925, 2926, 2927, 2928, 2929, 2930, 2931, 2932, 2933, 2934, 2935, 2936, 2937, 2938, 2939, 2940, 2941, 2942, 2943, 2944, 2945, 2946, 2947, 2948, 2949, 2950, 2951, 2952, 2953, 2954, 2955, 2956, 2957, 2958, 2959, 2960, 2961, 2962, 2963, 2964, 2965, 2966, 2967, 2968, 2969, 2970, 2971, 2972, 2973, 2974, 2975, 2976, 2977, 2978, 2979, 2980, 2981, 2982, 2983, 2984, 2985, 2986, 2987, 2988, 2989, 2990, 2991, 2992, 2993, 2994, 2995, 2996, 2997, 2998, 2999, 3000, 3001, 3002, 3003, 3004, 3005, 3006, 3007, 3008, 3009, 3010, 3011, 3012, 3013, 3014, 3015, 3016, 3017, 3018, 3019, 3020, 3021, 3022, 3023, 3024, 3025, 3026, 3027, 3028, 3029, 3030, 3031, 3032, 3033, 3034, 3035, 3036, 3037, 3038, 3039, 3040, 3041, 3042, 3043, 3044, 3045, 3046, 3047, 3048, 3049, 3050, 3051, 3052, 3053, 3054, 3055, 3056, 3057, 3058, 3059, 3060, 3061, 3062, 3063, 3064, 3065, 3066, 3067, 3068, 3069, 3070, 3071, 3072, 3073, 3074, 3075, 3076, 3077, 3078, 3079, 3080, 3081, 3082, 3083, 3084, 3085, 3086, 3087, 3088, 3089, 3090, 3091, 3092, 3093, 3094, 3095, 3096, 3097, 3098, 3099, 3100, 3101, 3102, 3103, 3104, 3105, 3106, 3107, 3108, 3109, 3110, 3111, 3112, 3113, 3114, 3115, 3116, 3117, 3118, 3119, 3120, 3121, 3122, 3123, 3124, 3125, 3126, 3127, 3128, 3129, 3130, 3131, 3132, 3133, 3134, 3135, 3136, 3137, 3138, 3139, 3140, 3141, 3142, 3143, 3144, 3145, 3146, 3147, 3148, 3149, 3150, 3151, 3152, 3153, 3154, 3155, 3156, 3157, 3158, 3159, 3160, 3161, 3162, 3163, 3164, 3165, 3166, 3167, 3168, 3169, 3170, 3171, 3172, 3173, 3174, 3175, 3176, 3177, 3178, 3179, 3180, 3181, 3182, 3183, 3184, 3185, 3186, 3187, 3188, 3189, 3190, 3191, 3192, 3193, 3194, 3195, 3196, 3197, 3198, 3199, 3200, 3201, 3202, 3203, 3204, 3205, 3206, 3207, 3208, 3209, 3210, 3211, 3212, 3213, 3214, 3215, 3216, 3217, 3218, 3219, 3220, 3221, 3222, 3223, 3224, 3225, 3226, 3227, 3228, 3229, 3230, 3231, 3232, 3233, 3234, 3235, 3236, 3237, 3238, 3239, 3240, 3241, 3242, 3243, 3244, 3245, 3246, 3247, 3248, 3249, 3250, 3251, 3252, 3253, 3254, 3255, 3256, 3257, 3258, 3259, 3260, 3261, 3262, 3263, 3264, 3265, 3266, 3267, 3268, 3269, 3270, 3271, 3272, 3273, 3274, 3275, 3276, 3277, 3278, 3279, 3280, 3281, 3282, 3283, 3284, 3285, 3286, 3287, 3288, 3289, 3290, 3291, 3292, 3293, 3294, 3295, 3296, 3297, 3298, 3299, 3300, 3301, 3302, 3303, 3304, 3305, 3306, 3307, 3308, 3309, 3310, 3311, 3312, 3313, 3314, 3315, 3316, 3317, 3318, 3319, 3320, 3321, 3322, 3323, 3324, 3325, 3326, 3327, 3328, 3329, 3330, 3331, 3332, 3333, 3334, 3335, 3336, 3337, 3338, 3339, 3340, 3341, 3342, 3343, 3344, 3345, 3346, 3347, 3348, 3349, 3350, 3351, 3352, 3353, 3354, 3355, 3356, 3357, 3358, 3359, 3360, 3361, 3362, 3363, 3364, 3365, 3366, 3367, 3368, 3369, 3370, 3371, 3372, 3373, 3374, 3375, 3376, 3377, 3378, 3379, 3380, 3381, 3382, 3383, 3384, 3385, 3386, 3387, 3388, 3389, 3390, 3391, 3392, 3393, 3394, 3395, 3396, 3397, 3398, 3399, 3400, 3401, 3402, 3403, 3404, 3405, 3406, 3407, 3408, 3409, 3410, 3411, 3412, 3413, 3414, 3415, 3416, 3417, 3418, 3419, 3420, 3421, 3422, 3423, 3424, 3425, 3426, 3427, 3428, 3429, 3430, 3431, 3432, 3433, 3434, 3435, 3436, 3437, 3438, 3439, 3440, 3441, 3442, 3443, 3444, 3445, 3446, 3447, 3448, 3449, 3450, 3451, 3452, 3453, 3454, 3455, 3456, 3457, 3458, 3459, 3460, 3461, 3462, 3463, 3464, 3465, 3466, 3467, 3468, 3469, 3470, 3471, 3472, 3473, 3474, 3475, 3476, 3477, 3478, 3479, 3480, 3481, 3482, 3483, 3484, 3485, 3486, 3487, 3488, 3489, 3490, 3491, 3492, 3493, 3494, 3495, 3496, 3497, 3498, 3499, 3500, 3501, 3502, 3503, 3504, 3505, 3506, 3507, 3508, 3509, 3510, 3511, 3512, 3513, 3514, 3515, 3516, 3517, 3518, 3519, 3520, 3521, 3522, 3523, 3524, 3525, 3526, 3527, 3528, 3529, 3530, 3531, 3532, 3533, 3534, 3535, 3536, 3537, 3538, 3539, 3540, 3541, 3542, 3543, 3544, 3545, 3546, 3547, 3548, 3549, 3550, 3551, 3552, 3553, 3554, 3555, 3556, 3557, 3558, 3559, 3560, 3561, 3562, 3563, 3564, 3565, 3566, 3567, 3568, 3569, 3570, 3571, 3572, 3573, 3574, 3575, 3576, 3577, 3578, 3579, 3580, 3581, 3582, 3583, 3584, 3585, 3586, 3587, 3588, 3589, 3590, 3591, 3592, 3593, 3594, 3595, 3596, 3597, 3598, 3599, 3600, 3601, 3602, 3603, 3604, 3605, 3606, 3607, 3608, 3609, 3610, 3611, 3612, 3613, 3614, 3615, 3616, 3617, 3618, 3619, 3620, 3621, 3622, 3623, 3624, 3625, 3626, 3627, 3628, 3629, 3630, 3631, 3632, 3633, 3634, 3635, 3636, 3637, 3638, 3639, 3640, 3641, 3642, 3643, 3644, 3645, 3646, 3647, 3648, 3649, 3650, 3651, 3652, 3653, 3654, 3655, 3656, 3657, 3658, 3659, 3660, 3661, 3662, 3663, 3664, 3665, 3666, 3667, 3668, 3669, 3670, 3671, 3672, 3673, 3674, 3675, 3676, 3677, 3678, 3679, 3680, 3681, 3682, 3683, 3684, 3685, 3686, 3687, 3688, 3689, 3690, 3691, 3692, 3693, 3694, 3695, 3696, 3697, 3698, 3699, 3700, 3701, 3702, 3703, 3704, 3705, 3706, 3707, 3708, 3709, 3710, 3711, 3712, 3713, 3714, 3715, 3716, 3717, 3718, 3719, 3720, 3721, 3722, 3723, 3724, 3725, 3726, 3727, 3728, 3729, 3730, 3731, 3732, 3733, 3734, 3735, 3736, 3737, 3738, 3739, 3740, 3741, 3742, 3743, 3744, 3745, 3746, 3747, 3748, 3749, 3750, 3751, 3752, 3753, 3754, 3755, 3756, 3757, 3758, 3759, 3760, 3761, 3762, 3763, 3764, 3765, 3766, 3767, 3768, 3769, 3770, 3771, 3772, 3773, 3774, 3775, 3776, 3777, 3778, 3779, 3780, 3781, 3782, 3783, 3784, 3785, 3786, 3787, 3788, 3789, 3790, 3791, 3792, 3793, 3794, 3795, 3796, 3797, 3798, 3799, 3800, 3801, 3802, 3803, 3804, 3805, 3806, 3807, 3808, 3809, 3810, 3811, 3812, 3813, 3814, 3815, 3816, 3817, 3818, 3819, 3820, 3821, 3822, 3823, 3824, 3825, 3826, 3827, 3828, 3829, 3830, 3831, 3832, 3833, 3834, 3835, 3836, 3837, 3838, 3839, 3840, 3841, 3842, 3843, 3844, 3845, 3846, 3847, 3848, 3849, 3850, 3851, 3852, 3853, 3854, 3855, 3856, 3857, 3858, 3859, 3860, 3861, 3862, 3863, 3864, 3865, 3866, 3867, 3868, 3869, 3870, 3871, 3872, 3873, 3874, 3875, 3876, 3877, 3878, 3879, 3880, 3881, 3882, 3883, 3884, 3885, 3886, 3887, 3888, 3889, 3890, 3891, 3892, 3893, 3894, 3895, 3896, 3897, 3898, 3899, 3900, 3901, 3902, 3903, 3904, 3905, 3906, 3907, 3908, 3909, 3910, 3911, 3912, 3913, 3914, 3915, 3916, 3917, 3918, 3919, 3920, 3921, 3922, 3923, 3924, 3925, 3926, 3927, 3928, 3929, 3930, 3931, 3932, 3933, 3934, 3935, 3936, 3937, 3938, 3939, 3940, 3941, 3942, 3943, 3944, 3945, 3946, 3947, 3948, 3949, 3950, 3951, 3952, 3953, 3954, 3955, 3956, 3957, 3958, 3959, 3960, 3961, 3962, 3963, 3964, 3965, 3966, 3967, 3968, 3969, 3970, 3971, 3972, 3973, 3974, 3975, 3976, 3977, 3978, 3979, 3980, 3981, 3982, 3983, 3984, 3985, 3986, 3987, 3988, 3989, 3990, 3991, 3992, 3993, 3994, 3995, 3996, 3997, 3998, 3999, 4000, 4001, 4002, 4003, 4004, 4005, 4006, 4007, 4008, 4009, 4010, 4011, 4012, 4013, 4014, 4015, 4016, 4017, 4018, 4019, 4020, 4021, 4022, 4023, 4024, 4025, 4026, 4027, 4028, 4029, 4030, 4031, 4032, 4033, 403					
--	--	--	--	--	--

Outro aspecto interessante é que a máxima acumulação de Mo observada equivaleu a 21,4 g/ha a qual ocorreu pela aplicação de 200 g/ha deste micronutriente.

Estes resultados quando analisados diante da premissa de que ao menos 40% do total de Mo aplicado às plantas que foi absorvido, possivelmente estariam acumulados na parte subterrânea das plantas no mínimo 75% do Mo absorvido pelas plantas, nos rizomas e nas raízes, e seriam exportados apenas 5% deste total (Tabela 25). Em termos de manejo este aspecto torna-se bastante relevante considerando o efeito residual deste micronutriente para o ciclo seguinte da cultura, o qual pode implicar em estratégias de manejo que não requeiram a aplicação de Mo em todos os ciclos da cultura, desde que a dose aplicada seja suficiente para a acumulação deste micronutriente nos rizomas das socarias. Neste sentido, estudos que avaliem a acumulação e distribuição do Mo nos diferentes órgãos das plantas de cana-de-açúcar revelariam a possibilidade e a importância de se estabelecer uma "reserva" de Mo nas socarias para o ciclo seguinte. Além disso, espera-se que plantas com esta "reserva" de Mo em seus órgãos subterrâneos seriam importantes para os processos iniciais de crescimento das plantas envolvidos no metabolismo do N, tais como utilização de N-NO_3^- do solo e, principalmente a atividade de fixação biológica de N_2 pelas bactérias diazotróficas presentes nestes órgãos da planta.

5.5 CONCLUSÕES

- 1 - A adubação com Mo na cultura da cana-de-açúcar é essencial para a otimização da nutrição nitrogenada e da produtividade em lavouras da região de baixada de Campos dos Goytacazes/RJ, minimizando as necessidades de aplicação de N-fertilizante;
- 2- A faixa de concentração ótima de Mo nas folhas índices da cana-de-açúcar (folha +3) foi de 0,24 a 0,44 mg/kg de Mo;
- 3 - O nível crítico de Mo nas folhas de cana-de-açúcar é dependente do nível de adubação nitrogenada aplicada ao solo.

6 **CAPÍTULO 4 – DIAGNOSE DO ESTADO NUTRICIONAL DA CANA-
DE-AÇÚCAR ATRAVÉS DO USO DO SISTEMA
INTEGRADO DE DIAGNOSE E RECOMENDAÇÃO**

6.1 INTRODUÇÃO

A avaliação do estado nutricional das culturas e o desenvolvimento de sistemas de diagnose seguros que auxiliem o manejo da fertilidade do solo e da nutrição das plantas para elevação da produtividade, tem sido um dos desafios mais relevantes para pesquisadores e extensionistas, efetivamente em Países onde ocorrem limitações na produtividade das culturas decorrentes de desequilíbrios nutricionais.

Em países cuja agricultura é praticada predominantemente em solos de baixa fertilidade natural, e por isso requer elevada aplicação de fertilizantes e corretivos industrializados para elevação da produtividade, tais como o Brasil, enfatiza-se a necessidade da utilização eficiente destes insumos, que somente poderá ser alcançada pela otimização dos processos biológicos associados à produtividade agrícola. Esta otimização pode ser alcançada com a detecção de quais são os nutrientes limitantes para as culturas através da análise do solo, diagnose visual e análise química foliar. Esta última atualmente é considerada como a mais eficiente, uma vez que resulta do efeito integrado de diversos fatores que influenciam o estado nutricional das plantas.

Os métodos de diagnose foliar baseiam-se na adoção de níveis críticos ou faixas de suficiências, que podem levar a imprecisão na recomendação de aplicação de fertilizantes, pois sofrem variações inerentes à heterogeneidade dos fatores que influenciam o estado nutricional das plantas, como tipo de solo, idade de amostragem, variedade, e ciclo cultural. O sistema integrado de diagnose e recomendação (DRIS) proposto por Beaufils (1973) apresenta vantagem sobre os demais por levar em consideração a relação entre os nutrientes, e por isso, integram no resultado os efeitos dos fatores limitantes à aplicação dos métodos do nível crítico e das faixas de suficiências.

O DRIS representa uma ferramenta eficaz para a diagnose do estado nutricional da cultura da cana-de-açúcar (Reis Jr., 1999) o qual pode diagnosticar desequilíbrios

nutricionais relevantes à produção desta cultura como vem sendo aplicado pela pesquisa agrícola (Elwali e Gascho, 1983, Elwali e Gascho, 1984, Beverly, 1991 Zambello Jr., et al., 1981).

O N é o nutriente mineral mais exigido pela cana-de-açúcar e, admite-se que potencialmente algumas variedades apresentam contribuição do processo de fixação biológica do nitrogênio atmosférico (FBN) associado na sua nutrição nitrogenada, é necessário que as condições de manejo da cultura, principalmente o estado nutricional das plantas, sejam adequados para a maximização deste potencial para FBN, que acarreta em economia de N-fertilizantes nesta cultura. Os nutrientes mais influenciam o processo de FBN são o fósforo, o nitrogênio mineral e o molibdênio, e por isso devem ser avaliados para que sua disponibilidade para as plantas seja adequada para a otimização da sua contribuição.

Este trabalho tem como objetivo:

- (1) Realizar uma diagnose do estado nutricional da cultura da cana-de-açúcar, em lavouras comerciais localizadas nos Estados de Minas Gerais, Pernambuco, São Paulo e Rio de Janeiro, pelo uso do DRIS para evidenciar as limitações nutricionais para a otimização do processo de FBN associado à cana-de-açúcar.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de folhas amostradas nas 48 lavouras avaliadas neste estudo localizadas nos estados de Minas Gerais Pernambuco e Rio de Janeiro e São Paulo foram retiradas da posição +3 (Gallo, 1970) e em quatro parcelas de 2000 m² distribuídas em cada uma das lavouras. Cada amostra foi composta dos limbos foliares, sem a nervura central, no terço médio de 30 folhas coletadas ao acaso dentro de cada uma das parcelas. As amostras foram lavadas em solução detergente neutro, e posteriormente passadas em água deionizada (resistividade > 5,0 M Ω cm²), secadas em estufa com ventilação corrente, à 65°C, até peso constante e moídas em moinho tipo Wiley com peneira de 40 mesh (<0,85 mm). O teor de nitrogênio total foi analisado por mineralização em solução sulfúrica, adicionada de catalizadores (K₂SO₄ + CuSO₄), e determinado por titulometria com ácido bórico semi-automática em destilador Kjeltex, pela técnica de Kjeldall (Alves et al., 1994). Os teores dos nutrientes, fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), cobre (Cu), zinco (Zn), ferro (Fe), Mn (Mn) foram determinados também por via úmida em extrato nítrico-perclórico (cinco mL de mistura 3:1) de meio grama de tecido foliar mineralizado à quente em bloco digestor à temperatura final de 180°C, por quatro horas. O teor de P foi determinado colorimetricamente pela técnica do molibdato-ascorbato, e o teor de K determinado pela técnica de espectrofotometria de emissão de chama. Os teores de Ca e Mg foram determinados pela técnica de espectrometria de absorção atômica, o teor de enxofre determinado pela técnica da turbidimetria com cloreto de bário. Os micronutrientes Cu, Zn, Fe e Mn foram determinados pela técnica de ICP-EAS, em plasma marca Perkin Ellmer, e o boro foi determinado pela técnica da azometina-H, no Laboratório de análises químicas do Centro Nacional de Pesquisa de Solos da Embrapa (Embrapa - CNPS). Os teores de molibdênio foram determinados por espectrofotometria pela

técnica do $KI-H_2O_2$, conforme descrito no capítulo II, em extrato nítrico-perclórico de um grama de tecidos foliares.

Associado aos teores dos nutrientes os dados de produtividade das lavouras foram utilizados para a formação do banco de dados utilizado para os cálculos de geração de normas DRIS para a cana-de-açúcar conforme (Reis Jr., 1999). Estas normas geradas com os dados das lavouras neste estudo foram testadas quanto a sua validação juntamente com normas geradas para outras lavouras que fazem parte do banco de dados da SNP-Consultoria agrônômica (Lima R., Dados não publicados), exceto para o molibdênio.

Os teores dos nutrientes encontrados no banco de dados deste estudo foram comparados aos teores considerados adequados para as lavouras de ambos os bancos de dados, o do presente estudo e o da SNP-consultoria Agrônômica. As lavouras cujos teores de nutrientes foram considerados como adequados apresentaram produtividade superior a 80 Mg/ha, que foram consideradas de alta produtividade, o restante, ou seja aquelas lavouras que apresentaram produtividades menores que 80 Mg/ha, foram consideradas como lavouras de baixa produtividade. Com estes dados foram estabelecidas e validadas as normas DRIS, conforme procedimento descrito por Reis Jr. (1999), as quais foram utilizadas para os cálculos dos índices DRIS para todos os nutrientes.

A diagnose foliar pelo DRIS foi feita em associação aos dados de contribuição da fixação biológica do nitrogênio (FBN) estimados no capítulo I deste trabalho. Este procedimento visou diagnosticar a possível relação do desbalanço nutricional da planta de cana-de-açúcar com a contribuição da FBN associada a esta cultura.

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.3.1 DIAGNOSE DO ESTADO NUTRICIONAL DA CANA-DE-AÇÚCAR COM USO DE NORMAS DRIS UNIVERSAIS

Utilizando-se dos dados observados para os teores dos doze nutrientes avaliados neste estudo (Tabela 26), através do procedimento descrito por Reis Jr. (1999), e considerando-se as normas DRIS universais independentemente da localidade da lavoura, foi estudado o estado nutricional pelo sistema integrado de diagnose e recomendação (DRIS) para cada uma das lavouras (Tabela 27). As normas DRIS para a cana-de-açúcar, foram desenvolvidas a partir do banco de dados obtido neste estudo nos Estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais e Pernambuco; e ao obtido pela SNP Consultoria que obteve as amostras analisadas em lavouras localizadas no Estado de Goiás, excetuando-se o Mo o qual foi avaliado apenas no primeiro banco de dados. Este procedimento foi tomado em função da tentativa de tornar a diagnose do estado nutricional através do DRIS independente da necessidade de estabelecimento destas normas DRIS para cada região e condições de manejo das lavouras, como preconizado Snyder et al. (1989) e Payne et al. (1990), os quais defenderam o uso universal das normas DRIS.

Utilizando-se as mesmas normas DRIS para todas as lavouras estimaram-se os índices DRIS (Tabela 27). Estes índices demonstraram que os desequilíbrios nutricionais foram causados por diferentes nutrientes de acordo com a Unidade da Federação na qual as lavouras de encontravam (Tabela 27). Este resultado implica que a fertilidade natural do solo pode estar sendo o principal fator determinante deste diagnóstico para aqueles nutrientes que não são incluídos na recomendação de adubação

para a cana-de-açúcar, além das diferenças na aplicação de fertilizantes e corretivos nas lavouras.

No Estado do Rio de Janeiro, o macronutriente enxofre (S) e os micronutrientes ferro (Fe) zinco (Zn) e ocasionalmente o manganês (Mn) apresentaram índices DRIS negativos, os mesmos não são recomendados na adubação das lavouras, ficando a fertilidade natural do solo responsável para ceder os mesmos para a planta. A observação dos índices DRIS negativos para Fe e Mn são características do solo da classe Cambissolo, no qual as maiores das lavouras estudadas neste Estado foram cultivadas. Reis Jr. (1999) em trabalho recente, também diagnosticou que os micronutrientes Cu e Zn, além do N, foram os que apresentaram índices DRIS mais negativos, e com isso concluiu que estes nutrientes limitam a produtividade da cultura no Estado do Rio de Janeiro, na região canavieira de Campos dos Goytacazes. Reforça-se por estes resultados a necessidade de estudos que avaliem a resposta a micronutrientes da cana-de-açúcar cultivada em solos da classe Cambissolos. Ainda, os resultados da lavoura 08 confirmam esta tendência, uma vez que esta lavoura foi cultivada em solo com elevado conteúdo de matéria orgânica (Turfa) e as plantas não apresentaram índices DRIS negativos para os micronutrientes em discussão (Tabela 27).

A observação dos índices DRIS negativos para o N em algumas das lavouras do Estado do Rio de Janeiro (Lavouras 1, 2 e 3) não deve significar a necessidade de elevação da dose aplicada deste nutriente nos ciclos de cana-soca ou a inserção de sua aplicação no ciclo de cana-planta, uma vez que os resultados observados na pesquisa demonstram que a capacidade de exploração do N "nativo" do solo e/ou o processo de FBN associado às plantas são admitidos serem responsáveis pela não resposta ao N em cana-planta (Azeredo et al., 1986) e a baixas doses em cana-soca (60 kg/ha). Entretanto, a nutrição nitrogenada para ser otimizada requer que outros nutrientes, como Fe, Mo e S sejam fornecidos para a planta adequadamente, pois os mesmos apresentaram índices DRIS negativos nestas lavouras, que poderia significar deficiência nutricional das plantas por estes nutrientes.

Tabela 26 – Teores de macronutrientes e micronutrientes em folhas +3 de plantas de cana-de-açúcar cultivadas nas diferentes lavouras em estudo

LAVOURA	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Zn	Cu	Mn	B	Mo
	g/kg						mg/kg					
Rio de Janeiro												
1	12,15	2,09	9,65	3,80	2,10	0,94	55,13	10,42	3,65	39,25	10,65	0,34
2	11,89	1,60	14,05	2,70	1,58	0,96	56,73	8,44	3,30	49,38	10,95	0,18
3	15,24	1,76	8,55	4,00	2,23	1,38	78,20	15,80	5,17	52,10	8,58	0,48
4	15,87	2,10	12,23	4,13	1,59	1,48	61,63	10,79	4,06	23,83	10,06	0,33
5	14,37	1,60	14,43	2,47	1,42	1,09	225,75	9,20	3,48	39,83	11,61	0,48
6	16,68	1,83	16,70	1,86	2,11	1,66	76,55	13,25	4,34	51,65	6,51	0,46
7	16,89	1,90	14,73	2,69	2,15	1,36	62,43	12,70	4,15	42,75	8,73	0,50
8	18,40	1,26	8,93	3,18	2,55	1,51	61,43	15,13	4,87	79,27	13,31	1,06
9	16,89	1,42	9,35	2,63	2,11	0,93	44,88	10,19	4,43	60,08	10,20	0,33
10	14,74	3,34	10,83	2,18	2,25	0,83	42,00	12,35	3,68	50,28	10,33	0,19
Pernambuco												
11	9,14	1,17	10,83	4,64	4,75	1,34	178,00	7,60	1,74	61,40	8,15	0,34
12	10,54	3,09	12,03	4,58	3,21	1,67	234,30	11,16	2,09	46,38	8,83	0,38
São Paulo												
17	15,79	1,64	15,80	3,09	1,61	1,62	103,80	12,45	5,17	119,25	6,65	0,15
18	14,20	1,65	11,98	2,84	1,66	1,21	85,03	12,63	4,88	27,60	6,74	0,68
19	15,37	1,68	12,03	4,12	2,30	1,37	115,25	11,42	4,56	55,43	7,61	0,23
20	14,35	1,34	12,08	4,40	2,14	1,82	92,05	13,80	4,53	92,90	7,31	0,13
21	15,24	2,07	15,73	2,36	1,78	1,22	124,30	14,95	4,12	23,80	5,84	0,64
22	16,00	2,10	11,28	3,36	2,31	1,35	83,83	11,80	4,76	12,80	7,08	1,82
23	14,25	2,17	14,28	1,69	1,56	0,96	54,20	14,40	4,38	12,80	4,93	1,33
24	14,64	1,78	10,10	2,55	1,75	1,05	68,50	14,00	4,87	19,33	4,44	0,70

Tabela 26 - Teores de macronutrientes e micronutrientes em folhas +3 de plantas de cana-de-açúcar cultivadas nas diferentes lavouras em estudo, continuação

LAVOURA	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Zn	Cu	Mn	B	Mo
	g/kg											
25	13,07	2,01	13,73	1,54	0,84	0,93	43,58	9,31	3,53	7,77	4,86	1,53
26	17,42	1,79	12,43	2,28	1,32	1,15	26,40	6,77	2,60	37,63	7,77	0,70
28	18,69	2,13	12,05	3,60	1,25	1,62	21,05	6,21	2,77	12,50	5,62	0,63
29	18,64	2,02	13,67	2,52	1,18	1,51	28,73	6,78	3,40	15,16	8,18	0,76
30	17,45	1,71	12,48	2,49	2,20	1,78	111,45	8,98	3,96	45,38	7,15	0,24
31	15,63	1,83	13,30	2,99	1,60	1,83	56,00	10,56	3,90	82,05	6,87	0,49

Minas Gerais

32	12,99	1,30	11,78	3,44	1,10	1,20	89,48	14,89	3,57	54,20	4,72	0,77
33	12,78	1,27	10,46	4,75	2,21	1,85	127,66	17,14	3,59	63,60	7,31	0,39
34	12,18	1,29	11,15	4,45	1,45	1,41	90,30	15,53	3,63	54,15	7,12	0,48
35	13,76	1,41	10,58	5,76	1,36	1,54	128,25	17,23	5,05	65,13	7,93	0,81
36	16,09	1,50	10,08	5,65	1,24	1,42	112,58	14,15	4,90	50,03	8,23	0,32
37	11,47	1,18	10,85	3,45	1,29	0,81	77,88	15,27	3,73	36,53	3,37	0,70
38	10,99	1,03	12,48	3,76	1,06	0,74	112,78	13,70	2,98	70,48	5,85	0,48
39	12,78	1,23	13,45	1,74	0,65	1,10	99,83	11,73	3,33	66,95	4,29	0,17
40	11,37	1,38	12,28	3,90	1,56	1,19	102,25	12,20	3,27	84,98	6,30	0,33
41	9,90	1,06	12,70	3,95	1,02	0,34	116,43	14,40	2,64	37,73	4,94	0,15
42	11,59	1,04	11,00	2,68	1,40	1,64	75,70	11,47	2,86	33,60	3,90	0,30
43	14,92	1,53	12,28	3,95	1,37	1,28	101,43	18,08	4,79	67,95	5,03	N/D
44	14,52	1,48	12,40	3,93	1,34	1,68	79,95	16,78	3,88	131,98	4,53	0,22
45	9,93	0,95	9,53	2,73	1,70	1,20	57,77	11,10	4,34	94,10	2,79	0,26
46	11,35	1,13	10,93	1,66	1,39	1,33	54,10	12,45	3,03	53,70	4,29	0,47
47	13,21	1,59	11,65	2,30	1,88	1,75	77,78	11,28	3,84	144,75	3,29	0,62
48	10,97	1,21	12,00	2,05	1,25	0,75	186,00	9,65	3,07	73,10	3,48	0,31

Tabela 27 – Índices DRIS, produtividade de colmos e contribuição da FBN na cultura da cana-de-açúcar

Lavoura	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Zn	Cu	Mn	B	Mo	IBN	Mg/ha	%Ndt/a	Variedade
Rio de Janeiro																
1	-2,1	5,6	-3,3	1,9	3,2	-4,1	-3,9	-1,7	0,7	-2,1	7,7	-2,0	38,2	80	40,4	CB 45-3 Segundo corte
2	-1,3	2,4	5,3	-2,8	-0,1	-3,2	-2,9	-4,9	-0,3	0,6	9,9	-2,5	36,2	80	36,4	RB 72454 Segundo corte
3	-0,2	0,5	-9,5	0,4	1,9	-1,4	-1,9	3,5	4,7	-1,0	1,6	1,5	29,4	56	30,5	RB 72454 Segundo corte
4	1,9	4,6	-0,5	2,5	-2,1	0,3	-3,3	-2,4	1,1	-7,6	5,3	0,1	31,7	90	Ne	RB 72454 Primeiro corte
5	1,5	1,1	4,4	-6,7	-3,7	-2,3	13,8	-5,3	-0,6	-2,5	8,0	-7,7	57,6	45	Ne	RB 72454 Sétimo corte
6	2,4	2,1	5,2	-13,5	2,4	1,4	-1,3	1,0	1,6	-1,0	-1,9	1,6	35,4	90	Ne	SP 701143 Primeiro corte
7	2,5	2,3	2,3	-5,9	2,3	-1,6	-3,6	0,0	0,3	-3,1	2,6	1,9	28,4	40	Ne	SP 701143 Sétimo corte
8	3,4	-7,7	-10,8	-5,2	3,1	-1,0	-7,2	1,9	2,1	3,0	9,0	9,4	63,8	150	24,4	SP 701143 Segundo corte
9	5,3	-0,8	-4,5	-4,6	3,8	-4,3	-6,6	-2,3	4,5	2,3	7,5	-0,4	46,9	65	Ne	RB 72454 primeiro corte
10	3,4	8,2	-0,3	-8,0	5,9	-4,8	-7,1	3,1	1,7	1,1	9,1	-12,1	64,8	65	Ne	SP 701143 Segundo corte
Pernambuco																
11	-8,1	-4,4	-1,7	6,2	17,7	1,1	9,3	-8,0	-14,8	0,1	3,1	-0,5	75,0	100	36,3	RB 784764 Segundo corte
12	-6,7	1,4	-2,0	3,2	7,2	2,2	11,0	-2,8	-14,3	-3,6	2,5	2,0	58,9	80	50,14	RB 83102 Segundo corte
São Paulo																
17	0,8	0,0	3,9	-3,4	-2,4	1,0	1,7	-1,4	5,3	8,5	-2,0	-11,8	42,2	82,1	36,65	RB 72454 Terceiro corte
18	0,2	1,3	-0,2	-3,5	-0,5	-1,7	0,2	1,2	5,6	-5,8	-0,6	3,9	24,7	70,8	31,22	RB 72454 Terceiro corte
19	0,5	0,2	-1,7	0,8	2,6	-1,4	2,2	-2,9	2,3	-0,5	-0,1	-2,0	17,2	126,6	41,6	RB 72454 Primeiro corte
20	-0,6	-3,4	-1,4	2,9	2,1	2,8	0,5	1,6	2,8	5,4	-0,2	-12,5	36,2	140	36	SP 801842 Primeiro corte
21	0,9	4,5	4,5	-8,7	-0,5	-2,1	3,9	4,1	0,9	-8,1	0,2	0,0	38,4	61,3	42,6	SP 701143 Quinto corte
22	1,0	3,7	-3,2	-2,9	3,0	-1,0	-0,5	-1,4	3,7	-17,6	-1,9	17,2	57,1	120	0	RB 813250 Segundo corte
23	1,4	7,4	5,0	-12,9	0,0	-3,2	-3,5	6,6	4,8	-15,3	-5,2	14,8	80,1	61	Ne	RB 72454 Quarto corte
24	2,7	4,1	-2,1	-4,1	1,8	-2,2	-1,6	5,6	7,5	-9,1	-9,4	6,7	47,5	72,9	Ne	SP 835089 Segundo corte
25	3,7	9,4	8,9	-11,7	-8,8	-0,9	-5,9	0,9	4,5	-20,9	-1,7	22,6	77,3	37	38,7	RB 835089 Segundo corte
26	9,3	5,4	4,5	-4,6	-1,5	0,1	-12,3	-8,0	-4,6	-1,2	5,4	7,6	64,4	61,3	40	SP 791011 Quarto corte
28	12,5	10,0	5,1	6,3	-1,2	6,8	-17,0	-8,5	-1,5	-13,7	0,4	0,8	83,8	130	58,4	RB 72454 Segundo corte
29	10,8	8,2	6,8	-2,0	-2,9	4,6	-12,2	-7,6	2,4	-11,2	7,3	-4,1	80,1	110	17,5	RB 825335 Segundo corte
30	4,9	1,5	0,3	-6,7	3,3	3,0	2,6	-6,3	1,1	-1,6	0,3	-2,4	34,0	51	18	SP 732233 Terceiro corte
31	1,5	2,2	1,0	-3,6	-2,2	2,9	-4,7	-3,5	-0,1	4,2	-0,8	3,1	29,8	65	0	SP 801842 Segundo corte

Tabela 27 – Índices DRIS, produtividade de colmos e contribuição da FBN na cultura da cana-de-açúcar, continuação

Lavoura	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Zn	Cu	Mn	B	Mo	IBN	Mg/ha	%Ndfa	Variedade
Minas Gerais																
32	0,7	-0,9	4,0	2,6	-6,4	1,4	2,8	7,0	0,0	1,8	-4,1	-8,8	40,5	50	24	RB 739359 Sexto corte
33	-1,6	-2,7	-2,9	4,3	-0,3	2,0	3,7	7,5	0,1	1,7	-0,8	-10,9	38,5	70	0	RB 801842 Primeiro corte
34	-2,9	-3,1	-1,7	4,1	-3,3	0,0	0,4	5,3	-0,9	0,0	0,1	3,0	24,8	80	0	SP 791011 Primeiro corte
35	-3,8	-4,4	-5,9	6,3	-7,5	-0,3	2,6	4,1	3,4	0,4	-0,5	5,6	44,8	120	36,4	SP 867515 Primeiro corte
36	1,6	-1,8	-5,6	7,4	-7,8	-0,5	2,2	1,3	4,1	-1,7	1,5	-0,6	36,1	120	27,5	RB 72454 Primeiro corte
37	2,4	1,2	4,7	6,6	1,8	-41,7	3,5	11,7	6,1	2,0	-10,2	11,8	103,7	60	0	SP 801842 Quinto corte
38	-1,2	-4,4	4,3	4,6	-5,5	-15,9	5,1	6,2	-1,8	4,5	-0,2	4,3	58,7	117,9	0	RB 739359 Primeiro corte
39	3,5	0,6	7,3	-8,5	-14,1	0,5	5,1	4,5	2,3	5,1	-3,9	-2,3	57,7	90	0	CB 45-3 Primeiro corte
40	-3,5	-1,2	1,1	2,5	-1,6	-1,8	1,8	0,9	-2,3	4,9	-1,6	0,7	29,3	77,9	Ne	RB 867515 Primeiro corte
41	0,0	0,0	9,4	9,8	-2,5	-28,7	9,7	11,7	-0,7	-6,8	-0,2	-1,8	81,3	122,6	Ne	SP 791011 Segundo corte
42	1,5	-2,6	3,0	-0,6	0,2	5,7	1,8	4,3	-1,0	-2,0	-6,5	-3,6	32,8	97,9	Ne	RB 739389 Terceiro corte
43	1,9	0,7	0,3	3,0	-3,4	-0,6	2,9	9,4	5,4	2,7	-5,5	NE	35,8	95,8	Ne	RB 72454 Terceiro corte
44	1,0	-0,5	0,1	2,6	-4,6	2,7	-0,7	7,1	-0,2	11,0	-7,6	-10,9	49,7	64,6	Ne	SP 801842 Primeiro corte
45	-2,8	-4,5	-0,3	0,2	3,3	1,0	-2,0	2,9	8,5	9,1	-13,6	-2,0	50,2	100	Ne	RB 765418 Primeiro corte
46	0,2	-1,7	2,5	-9,5	-0,5	2,5	-2,2	6,1	-0,5	2,6	-4,3	4,8	32,6	80	Ne	RB 739354 Primeiro corte
47	-0,3	1,3	-0,1	-7,0	1,7	3,7	-1,0	-0,7	1,1	13,0	-14,7	3,0	47,6	Ne	Ne	Sp 701143 Primeiro corte
48	-0,1	-0,3	4,5	-5,9	-2,1	-4,9	12,7	-0,5	0,4	5,2	-8,8	-0,2	45,6	Ne	Ne	SP 801842 Primeiro corte

No Estado de Pernambuco observou-se que os nutrientes mais limitantes, que apresentaram índices DRIS negativos, foram os micronutrientes Cu e Zn, além do N (tabela 27). As lavouras estudadas foram cultivadas em solos da classe bruno não cálcico, com elevado pH, podendo ser a causa desta restrição nos dois cátions micronutrientes. Estes solos apresentaram elevada capacidade de troca catiônica, possivelmente ocasionando situação de baixa disponibilidade dos mesmos.

As lavouras amostradas no Estado de São Paulo apresentaram os maiores desequilíbrios no estado nutricional das plantas, inclusive entre os nutrientes que são aplicados em elevadas quantidades nestas lavouras, tais como N e P (Tabela 27). Estes resultados podem ser importantes na avaliação das práticas de manejo da fertilidade do solo nas lavouras de cana-de-açúcar neste Estado, auxiliando na tentativa de elaboração de prática de adubação equilibrada entre os nutrientes.

No Estado de Minas Gerais, os nutrientes mais limitantes foram o Mg, B, Mo e N (Tabela 27). Considerando-se que as lavouras de Minas Gerais apresentaram as menores contribuições da FBN para as plantas, os desequilíbrios nutricionais ocasionados pela carência destes dois nutrientes devem ser corrigidos com a aplicação de fertilizantes.

6.3.2 INCLUSÃO DO MO NA DIAGNOSE NUTRICIONAL DA CANA-DE-AÇÚCAR

Além da tentativa de uso de normas DRIS universais, este estudo realizou a inclusão do Mo dentro dos nutrientes avaliados pelo DRIS, pois carência de aplicação de micronutrientes na adubação das lavouras de cana-de-açúcar e a diagnose de deficiências dos mesmos (Reis Jr, 1999), podem justificar este procedimento. Na literatura não se observou outra situação na qual o Mo foi avaliado por este sistema para a cana-de-açúcar, bem como para outras culturas. Possivelmente, esta situação ocorre pelas limitações técnicas da detecção de Mo em plantas, principalmente a cana-de-açúcar, a qual apresenta baixas concentrações deste micronutriente (Tabela 26) e também pela não observação de respostas da cana-de-açúcar à aplicação deste micronutriente (Alvarez, et al. 1979). No entanto, esta ausência de resposta ao Mo pode ter sido ocasionada pela elevada fertilidade

natural dos solos presentes nas lavouras estudadas, os quais em sua maioria foram da classe Latossolo Roxo e Latossolo vermelho escuro, os quais segundo Bataglia et al. (1975), são os mais férteis em Mo do País. A validação das normas DRIS para o Mo foram feitas utilizando-se os dados observados nas lavouras avaliadas neste estudo, pois não se observou outro banco de dados para este micronutriente, e por isso, deve ser ampliada para que se caracterizem as limitações deste nutriente para a cultura da cana-de-açúcar de forma adequada, considerando-se a importância deste micronutriente para a nutrição nitrogenada da cana-de-açúcar.

Os índices DRIS observados para o Mo nas lavouras localizadas no estado de Pernambuco, diagnosticaram situação de equilíbrio nutricional da planta deste micronutriente, uma vez que os mesmos apresentaram-se próximos a zero (Tabela 27). Nestas lavouras a contribuição da FBN foi significativa e a produtividade de colmos foi elevada, uma vez que a lavoura apresentou-se dentro do grupo das lavouras consideradas de alta produtividade ($>80,0$ Mg/ha). Estas lavouras apresentaram concentrações de Mo em 0,27 e 0,48 mg/kg (Tabela 26). Estes teores de Mo se encontram dentro da faixa estabelecida por Malavolta et al. (1997) e os encontrados neste estudo para a variedade RB 72 454 cultivada em Campos dos Goytacazes, ambos entre 0,20 a 0,30 mg/kg. Entretanto, os índices DRIS observados para o N foram negativos, o que diagnosticaria uma carência deste nutriente. Este resultado pode significar que o uso universal das normas DRIS para lavouras localizadas em regiões distintas pode ser equivocado, como proposto por Jones Jr. (1993), mas pode também evidenciar a necessidade de otimização do equilíbrio nutricional das plantas pois as mesmas apresentaram índices DRIS altamente negativos para o Zn e o Cu e positivos para Ca e Mg, resultando em elevados valores de índice de balanço nutricional, o qual representa desequilíbrio nutricional na medida em que aumenta o seu valor (Tabela 27).

Os índices DRIS observados para o Mo nas lavouras do Estado de São Paulo demonstram que a nutrição das plantas com este nutriente é bastante heterogênea, e pode esta ligada à fertilidade natural do solo, uma vez que este micronutriente não é recomendado para aplicação na forma de fertilizantes. Neste sentido, avaliando-se a sua influência no processo de FBN associado às plantas, de uma maneira geral, demonstrou que

o fornecimento deste micronutriente às plantas pode estar limitando este processo, pois as contribuições significativas deste da FBN para a nutrição das plantas foi observada em lavouras que apresentaram índices DRIS nulos ou positivos (lavouras 17, 18, 19, 21, 25, 26 e 28). Além disso, nas lavouras 26 e 27 as plantas apresentaram índices DRIS positivos e considerados representarem níveis tóxicos para outros nutrientes. No entanto, o Mo apresenta uma faixa entre a concentração que representa a suficiência e aquela que representa a toxidez bastante ampla (Gupta, 1997), o que poderia explicar este fenômeno. Além disso, os teores observados deste micronutriente nas plantas nas lavouras 25 e 26 foram, 1,53 e 0,70 mg/kg, respectivamente, que de acordo com Coelho et al. (2001), estão fora da concentração tóxica para as plantas de canas-de-açúcar, observadas estarem acima de 10,0 mg/kg de Mo nas folhas da planta.

Na lavoura 22 a contribuição da FBN foi considerada nula, no entanto o índice DRIS para o Mo foi positivo e a lavoura apresentou elevada produtividade (Tabela 29). Estes resultados evidenciam a importância de avaliarem-se outros fatores que podem influenciar a contribuição da FBN para a cultura da cana-de-açúcar, como por exemplo à variedade, que nesta lavoura foi a RB 813250, que pode apresentar baixo potencial para receber contribuições da FBN. Ainda na lavoura 31 que apresentou a variedade SP 801842, considerada de alto potencial para a FBN neste estudo (Capítulo I), apresentou índice DRIS para o Mo adequado porém contribuição da FBN nula (Tabela 27). Esta lavoura foi considerada de baixa produtividade (65,0 Mg/ha) e o índice de balanço nutricional (IBN) foi elevados, ocasionados pelo desequilíbrio nutricional resultante de limitações em Ca, Mg, Fe, e Zn (Tabela 27).

foi elevados, ocasionados pelo desequilíbrio de Mg, Fe, e Zn (Tabela 27). De acordo com os resultados observados neste estudo (Capítulo 03) onde a correção da carência de Mo com objetivo de otimizar os processos de utilização de N do solo e a contribuição da FBN para as plantas pode ser viável, a lavoura 33 em Minas Gerais apresentou a maior limitação em relação ao Mo, e baixa produtividade, com IBN elevados, indicando que o Mo estaria limitando a produtividade desta cultura (Tabela 27). Nesta lavoura, o teor de Mo observado nas folhas das plantas foi o de 0,25 mg/kg, demonstrado que a aplicação deste micronutriente é necessária.

6.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso do DRIS para a diagnose nutricional para a cultura da cana-de-açúcar tem sido utilizado com sucesso em, diversos estudos (Reis Jr., 1999). No entanto, a totalidade destes estudos não inclui a diagnose de S, B e principalmente Mo. Estes três nutrientes mostraram-se limitantes para diversas lavouras avaliadas no presente estudo, sendo essencial que estes sejam incluídos na diagnose. Este trabalho apresenta uma primeira aproximação para o DRIS considerando a inclusão destes elementos na diagnose nutricional da cana-de-açúcar e a tentativa do uso universal das normas DRIS independentemente da região de localização das lavouras, que aumentaria a aplicabilidade desta técnica de diagnose nutricional de plantas. Enfatiza-se que o Mo deve ser avaliado em outras condições de estudo, pois participa da nutrição nitrogenada diretamente, e principalmente é importante para a otimização da contribuição da FBN associada às plantas, que pode ocasionar diminuição dos custos com a aplicação deste nutriente.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adriano DC (1986) 'Trace Elements in Terrestrial Environment.' (Springer-Verlag: Berlin)
- Agarwala SC, Chatterjee C, Nautiyal N, Sharma CP (1986) Molybdenum nutrition of four *Aspergillus niger* species. *Canadian Journal of Microbiology* **32**, 557-561.
- Agarwalla SC, Chatterjee C, Nautiyal N (1988) Effects of induced molybdenum deficiency on growth and enzyme activity in sorghum. *Tropical Agriculture* **65**, 333-336.
- Agarwalla SC, Hewitt EJ (1955) Molybdenum as a plant nutrient. V. the interrelationships of molybdenum and nitrate supply in the concentration of sugars, nitrate and organic nitrogen in cauliflower plants grown in sand culture. *Journal of Horticulture Science* **30**, 163-180.
- Agarwalla SC, Nautiyal N, Chatterjee C (1986) Manganese, copper, and molybdenum nutrition of papaya. *Journal of Horticulture Science* **61**, 397-405.
- ALEXANDER SILVA DE RESENDE. **A fixação biológica de nitrogênio como suporte para a nutrição nitrogenada e fertilidade do solo na cultura da cana-de-açúcar: Uso de adubos verdes.** Departamento de Solos - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2000. 135p. Tese de Mestrado.
- ALVAREZ V., V.H. Avaliação da fertilidade do solo. (Superfície de resposta - modelos aproximativos para expressar a relação fator-resposta). Viçosa, UFV, Impr. Univ., 228. 1994. 75p.
- Anderson AJ (1956) The Role of Molybdenum in Plant Nutrition. (Eds WD McElroy and B Glass) pp. 3-58. (The Johns Hopkins Press: Baltimore)
- Aplicação do Sistema Integrado de Diagnóstico e Recomendação (DRIS) em soqueiras de cana-de-açúcar para diferentes épocas de amostragem foliar.** Piracicaba/SP: Planalsucar, 2002. (Boletim técnico, 1).

- Arnon DI, Ichioka PS, Wessel G, Fujiwara A, Wooley JT (1955) molybdenum in relation to nitrogen metabolism. I. Assimilation of nitrate nitrogen by *Scendesmus*. *Physiology Plantarum* 8, 538-551.
- Arnon DI, Stout PR (1939) Molybdenum as essential elements for higher plants. *Plant Physiology* 14, 599-502.
- Aubert H, Pinta M (1977) 'Trace Elements in Soils.' (Elsevier: Nova York)
- Azeredo DF, Bolsanello J, Webber M, Vieira JR (1986) Nitrogênio em cana-planta, doses e fracionamento. *STAB* 4, 26-32.
- AZEREDO, D.F. & BOLSANELO, J. Adubação nitrogenada na cana-de-açúcar. *STAB*, 3: 35-38, 1980.
- Bailey JS, Laidlaw A, S. (1999) The interactive effects of phosphorus, potassium, lime and molybdenum on the growth and morphology of the clover (*Trifolium repens*) at establishment. *Grass Forage Science* 54, 69-76.
- Baldani JJ, Baldani VLD, Sampaio MJAM, Dobereiner J (1986) Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov., sp. nov., a root associated nitrogen-fixing bacterium. *International Journal of Systematic Bacteriology* 36, 86-93.
- Baldani JJ, Caruso L, Baldani VLD, Goi SR, Dobereiner J (1997) Recent advances in BNF with non-legume plants. *Soil Biology and Biochemistry* 29, 911-922.
- Baldani JJ, Pot B, Kirchof G, Falsen E, Baldani VLD, Olivares FL, Hoste K, Hartmann A, Gillis M, Dobereiner J (1996) Emended description of *Herbaspirillum*; inclusion of [*Pseudomonas*] *rubrisubalbicans*, a mild plant pathogen, as *Herbaspirillum rubrisubalbicans* comb. nov.; and classification of a group of clinical isolates (EF group1) as *Herbaspirillum* species 3. *International Journal of Systematic Bacteriology* 46, 802-810.
- BALDOCK, J.O. & SCHULTE, E.E. Plant analysis with standardized scores combines DRIS and sufficiency range approaches for corn. *Agronomy Journal*, 88: 448-456, 1996.
- York)
- Barbes SA (1984) Molybdenum. In 'Soil Nutrient Bioavailability'. pp. 338-45. (Wiley: New York)
- Barshad I (1951) Factors affecting the Mo content of pastures plants. I. Nature of soil molybdenum, growth, and soil pH. *Soil Science* 71, 297-313.
- Bataglia, O. C., Furlani, P. R., and Valadares, J. M. A. S. O molibdênio em solos do Estado de São Paulo. *Anais do Congresso Brasileiro de Ciência do Solo* XV, 107-111. 1971.
- Ref Type: Abstract

- BEALFILS, E.R. **Diagnosis and recommendation integrated system (DRIS).** Pietermaritzburg: 2002. (Soil Science Bulletin, 1).
- Bear FE (1956) Molybdenum in plant and animal nutrition. *Soil Science* **81**, 159-258.
- Bergersen FJ, Peoples MB, Turner GL (1988) Isotopic discriminations during the accumulation of nitrogen by soybeans. *Australian Journal of Plant Physiology* **15**, 407-420.
- Bergersen FJ, Turner GL, Amarger N, Mariotti F, Mariotti A (1986) Strain of *Rhizobium lupini* determines natural abundance of ^{15}N in root nodules of *Lupinus* spp. *Soil Biology and Biochemistry* **18**, 97-101.
- Bergmann W (1992) 'Nutrition Disorders of Plants. Visual and Analytical Diagnosis.' (Gustav Fisher Verlag: Jena)
- Bibak a, Borggaard OL (1994) Molybdenum adsorption by aluminum and iron oxides and humic acid. *Soil Science* **158**, 323-328.
- Biggs IM, Stewart GR, Wilson JR, Critchley C (2001) ^{15}N natural abundance studies Australian commercial sugarcane. *Plant and Soil* in press.
- Boddey RM, Peoples MB, Palmer B, Dart P (2000) Use of the ^{15}N natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials. *Nutrient Cycling in agroecosystems* **57**, 235-270.
- Boddey RM, Rezende CdP, Pereira JM, Cantarutti RB, Alves BJR, Ferreira E, Richter M, Cadisch G, Urquiaga S (1995) The nitrogen cycle in pure grass and grass/legume pastures: Evaluation of pasture sustainability. FAO/IAEA, Vienna, Austria. pp 307-319. In 'Nuclear Techniques in Soil-Plant Studies for Sustainable Agriculture and Environmental Preservation'. pp. 307-309. (FAO/IAEA: Vienna, Austria)
- BODDEY, R.M. & VICTORIA, R.L. (1986) Estimation of biological nitrogen fixation associated with *Brachiaria* and *Paspalum* grasses using ^{15}N -labelled organic matter and fertilizer. *Plant and Soil*, **90**: 265-292.
- BODDEY, R.M.; OLIVEIRA, O.C.; ALVES, B.J.R. & URQUIAGA, S. (1995) Field application of the ^{15}N isotope dilution technique for the reliable quantification of plant-associated biological nitrogen fixation. *Fertilizer Research*, **42**: 77-87.
- BODDEY, R.M.; PEOPLES, M.B.; PALMER, B. & DART, P.J. Use of the ^{15}N natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, **57**: 235-270, 2000.
- BODDEY, R.M.; POLIDORO, J.C.; RESENDE, A.S.; ALVES, B.J.R. & URQUIAGA, S. (2001) Use of the ^{15}N natural abundance technique for the quantification of the contribution

- of N₂ fixation to sugar cane and other grasses. *Australian Journal of Plant Physiology*, 28: 889-895.
- Bolland MDA, Baker MJ (2000) Powdered granite is not an effective fertilizer for clover and wheat in sandy soil from Western Australia. *Nutrient Cycling in agroecosystems* 56, 59-68.
- BRADFELD, L.R.P. & STICKLAND, J.F. The determination of molybdenum in plants by an automated catalytic method. *Analyst*, 100: 1-6, 1975.
- Bremer E, Gehlen H, Swerhone GDW, Van Kessel C (1993) Assessment of reference crops for the quantification of N₂ fixation using natural and enriched levels of ¹⁵N abundance. *Soil Biology and Biochemistry*, 29, 1197-1202.
- Burmester CH, Adams JF, Odom JW (1988) Response of soybean to lime and molybdenum on ultisols in Northern Alabama. *Soil Science Society American Journal* 52, 1391-1398.
- Butler LRP, Mathews PM (1996) The determination of trace quantities of molybdenum by atomic absorption spectrometry. *Analytical Chemical Acta* 36, 310-327.
- Carranca C, Varennes A, Rolston DE (1999) Biological nitrogen fixation estimated by ¹⁵N-dilution, natural abundance, and N difference techniques in a subterranean clover-grass sward under Mediterranean conditions. *European Journal of Agronomy* 10, 81-89.
- Catani RA, Alcarde JC, Furlani PR (1970) A adosrção de Molibdênio pelo solo. *Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"* 27, 223-237.
- Cavalcante V, Dobereiner J (1988) A new acid tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugar cane. *Plant Soil* 108, 23-31.
- Chatterjee C, Nautiyal N, Agarwalla SC (1985) metabolic changes in mustard plants associated with molybdenum deficiency. *New Phytologist* 100, 511-518.
- Cheng HH, Bremner JM, Edwards AP (1964) Variations of nitrogen-15 abundance in soils. *Science* 146, 1574-1575.
- Chien, S. H., Shearer, G., and Kohl, D. H. (1977) The nitrogen isotope effect associated with nitrate and nitrite loss from waterlogged soils. *Soil Science Society of America Journal* 41, 63-69.
- Dantas, H. S. and Horowitz, A. Determinação de molibdênio trocável em alguns solos de Pernambuco. *Anais do Congresso Brasileiro de Ciência do Solo* XV, 103-105. 1971.
- Davies EB (1956) Factors affecting molybdenum availability in soils. *Soil Science* 81, 209-216.

Deonir Luiz Dalpiai (1996) **Determinação Espectrofotométrica de Molibdênio em Solo e Tecido Vegetal e Adsorção de Molibdato em Alguns Solos de Minas Gerais.** 'Magister Scientiae Dissertação,' Universidade Federal de Viçosa.

Dey BK, Ghosh A (1986) Effects of molybdenum on nitrogen fixation in rhizosphere soil of rice. *Journal Indian Society Soil Science* **34**, 493-497.

Dey BK, Ghosh A (1986) Effect of molybdenum on the free amino acid, reducing sugars, and organic acids composition of rhizosphere soils of rice. *Indian Agriculturist* **30**, 53-58.

Dobereiner J, Ruschel AP (1958) Uma nova espécie de *Beijerinckia* Derx. *Revista Brasileira de Microbiologia* **21**, 261-277.

Domenach AM, Kurdali F, Bardin R (1989) Estimation of symbiotic dinitrogen fixation in alder forest by the method based on natural ^{15}N abundance. *Plant and Soil* **118**, 51-59.

Doughton JA, Saffigna PG, Vallis I (1991) Natural Abundance of N-15 in Barley As Influenced by Prior Cropping or Fallow, Nitrogen Fertilizer and Tillage. *Australian Journal of Agricultural Research* **42**, 723-733.

Doughton, J. A., Saffigna, P. G., Vallis, I., and Mayer, R. J. (1995) Nitrogen fixation in chickpea. II. Comparison of ^{15}N enrichment and ^{15}N natural abundance methods for estimating nitrogen fixation. *Australian Journal of Agricultural Research*, v. 46, p. 148-60.

Doughton, J. A.; Vallis, I. & Saffigna, P.G. (1992) An indirect method for estimating ^{15}N isotope fractionation during nitrogen fixation by a legume under field conditions. *Plant and Soil*, v. 144, p. 23-29.

Eivazi F, Sims JL (1997) 'Analytical Techniques for Molybdenum Determination in Plants and Soils.' (Cambridge University Press: New York)

Eivazi F, Sims JL, Crutchfield J (1982) Determination of molybdenum in plant materials using a rapid, automated method. *Communication in Soil Science and Plant Analysis* **13**, 35-50.

EIVAZI, F.; SIMS, J.L. Analytical techniques for molybdenum determination in plants and Soils. In: Umesch C.Gupta, ed. *Molybdenum in Agriculture*. New York :Cambridge University Press, 1997. p. 92-110.

ELWASI, A.M.; GASCHO, G.J. & SUMNER, M.E. Soil testing, foliar analysis, and DRIS as a guide for sugarcane fertilizer. *Agronomy Journal*, 76: 466-470, 1985.

Evans, H. J., Purvis, E. R., and Bear, F. E. Colorimetric determination of molybdenum by means of nitric and perchloric acids. *Analytical Chemistry*, 22, 1950.

- Feigin A, Kohl DH, Shearer G, Commoner B (1974) Variation in the natural nitrogen-15 abundance in nitrate mineralized during incubation of several illinois soils. *Soil Science Society of America Proceedings* **38**, 90-95.
- Fontes RLF, Dallpai DL, Braga JM, Alvarez VHA (2000) Determination of molybdenum in soil extrats with potassium iodide plus hydrogen peroxide reaction. *Communication in Soil Science and Plant Analysis* **31**, 2671-2683.
- Fosrtescue JAC (1992) Landscape geochemistry: retrospect and prospect - 1990. *Apllyed Geochemistry* **7**, 1-53.
- Franco, A. A.; Peres, J. R. R.; Nery, M. (1979) The use of *Azotobacter paspali* N₂-ase (C₂H₂-reduction activity) to measure molybdenum deficiency in solis. *Plant and Soil* **50**, 1-11
- FUGE, R. An automated method for determination of molybdenum in geological and biological samples. *Analyst*, **95**: 171-176, 1970.
- Garten Jr CT (1993) Variation in foliar ¹⁵N abundance and the availability of soil nitrogen on Walker Branch watershed. *Ecology* **74**, 2098-2113.
- Gillis M, Dobereiner J, Pot B, Goor M, Falsen E, Hoste K, Reinhold B, Kersters K (1991) Taxonomic relationships between {*Pseudomonas*} rubrisubalbicans, some clinical isolates (Ef group 1), *Herbaspirillum seropedicae* and {*Aquaspirillum*} aotutrophicum. In 'Nitrogen Fixation'. (Eds M Polsinelli, R Materassi, and M Vienzini) pp. 292-294. (Kluwer academic publ.: Dordrecht)
- Grigg JL (1963) determination of available molybdenum in soils. *New Zealand Journal of Science and Technology* **34**, 405-414.
- Gupta UC (1970) Molybdenum requeriment of crops grown on a sandy clay loam in the greehouse. *Soil Science* **110**, 280-282.
- Gupta UC (1971) Boron and molybdenum nutrition of wheat, barley and oats grown in Price Edwards Island soils. *Canadian Journal of Soil Science* **51**, 415-422.
- Gupta UC (1997) Deficient, Sufficient, and Toxic Concetrations of Molybdenum in Crops. In 'Molybdenum in Agriculture'. (Ed. UC Gupta) pp. 150-159. (Cambridge University Press: New York)
- Gupta UC (1997) 'Molybdenum in Agriculture.' (Cambridge University Press: UNited States of America)
- Gupta UC (1997) Soil and Plant Factors Affecting Molybdenum Uptake by Plants. In 'Molybdenum in Agriculture'. (Ed. UC Gupta) pp. 71-91. (Cambridge University Press: New York)

- Gupta UC (1997) Symptoms of Molybdenum Deficiency and Toxicity in Crops. In 'Molybdenum in Agriculture'. (Ed. UC Gupta) pp. 160-170. (Cambridge University Press: New York)
- Gupta UC, Cipman EW, Mackay DC (1978) Effects of molybdenum and lime on the yield and molybdenum concentration and crop yields on sphagnum peat soils. *Canadian Journal of Plant Science* **58**, 983-992.
- Gupta UC, Lipset J (1981) Molybdenum in soils, plants and animals. *Advances in Agronomy* **34**, 73-115.
- Gupta UC, Mackay DC (1965) Extraction of water soluble copper and molybdenum from podzol soils. *Proceedings of Soil Science Society of America* **29**, 323.
- Gupta UC, MaKay DC (1956) Determination of Mo in plant materials using 4-metil - 1,2-dimercaptobenzene (dithiol). *Soil Science* **99**, 414-415.
- Handley LL, Daft MJ, Wilson J, Scrimgeour CM, Ingleby K, Sattar MA (1993) Effects of the ecto- and VA-mycorrhizal fungi *Hydnagium carneum* and *Glomus clarum* on the ^{15}N and ^{13}C values of *Eucalyptus globulus* and *Ricinus communis*. *Plant, Cell and Environment* **16**, 375-382.
- Handley, L. L. and Scrimgeour, C. M. (1997) Terrestrial plant ecology and ^{15}N natural abundance: The present limits to interpretation for uncultivated systems with original data from a Scottish old field. *Advances in Ecological Research* **27**, 133-212.
- Hardy RWF, Holsten RD, Jackson EK, Burns RC (1968) The acetylene-ethylene assay for N_2 fixation: Laboratory and field evaluations. *Plant Physiology* **43**:1185-1207.
- Havlin JL, Soultanpour PN (1980) a nitric acid plant tissue digest method for use with inductively coupled plasma spectrometry. *Communication in Soil Science and Plant Analysis* **11**, 969-980.
- Herridge DF (1982) Relative abundance of ureides and nitrate in plant tissues of soybean as a quantitative assay of nitrogen fixation. *Plant Physiology* **70**, 1-6.
- Herridge DF, Bergersen FJ, Peoples MB (1990) Measurement of nitrogen fixation by a quantitative assay of nitrogen fixation. *Plant Physiology* **93**: 495-503.
- Herridge, D.F. & Peoples, M.B. (1990) Ureide assay for measuring nitrogen fixation by nodulated soybean calibrated by ^{15}N methods. *Plant Physiology*, **93**: 495-503.
- Hewinkel, H., Kyrkby, E. A., Le Bot, J., and Marschner, H. Phosphorus enhances molybdenum uptake by tomato plants. *Journal of Plant Nutrition*, **15**, 1992.

- Hood, R.; Merckx, R.; Jensen, E.S.; Powlson, D.; Matijevic, M. & Hardarson, G. (2000) Estimating crop N uptake from organic residues using a new approach to the ^{15}N isotope dilution technique. *Plant and Soil*, v. 223, p. 33-43.
- Horner CK, Burk D, Allison FE, Sherman FS (1942) Nitrogen fixation by *Azotobacter* as influenced by molybdenum and vanadium. *Journal Agriculture Science* 65, 173-193.
- Hossain SA, Waring SA, Strong WM, Dalal RC, Weston EJ (1995) Estimates of nitrogen fixation by legumes in alternate cropping systems at Warra, Queensland using enriched- ^{15}N dilution and natural ^{15}N abundance techniques. *Australian Journal of Agricultural Research* 46, 493-505.
- Hungria, M. & Vargas, M.A.T. (2000) Environmental factors affecting N_2 fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. *Field Crops Research*, v. 65, p. 151-164.
- Jackson DR, Meglen RR (1975) A procedure for extration of molybdenum from soil with anion-exchange resin. *Soil Science Society American Journal* 39, 373-374.
- Jacob-Netto J, Franco AA (1995) Molybdenum enrichment of comon bean seeds. International Symposium on Biological Nitrogen Fixation whit non-legumes plants. Anais... Angra dos Reis/Rio de Janeiro.
- Jarrel WM, Dawson MD (1978) Sorption and availability of molybdenum in soils of Western Oregon. *Soil Science Society American Journal* 42, 412-415.
- Johnson CM (1952) Molybdenum nutrition of crop plants. II. Plant and soil factors concerned with molybdenum deficiencies in crop plants. *Plant Soil* 04, 178-196.
- Jones LPH (1956) Interaction of molybdenum and iron in soil. *Science* 123, 1116.
- Jones LPH (1957) Solubility of molybdenum in simplified system and aqueous soil suspension. *Journal Soil Science* 8, 313-327.
- Jornalcana. A melhor notícia do setor. Jornalcana, 2001.
- Junk, G. and Svec, H. V. (1958) The absolute abundance of the nitrogen isotopes in the atmosphere and compressed gas from various sources. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 14, 234-243.
- Karimian N, Cox FR (1978) Adsorption and exctratability of molybdenum in relation to some chemical properties of soil. *Soil Science Society American Journal* 42, 757-761.
- Karimian N, Cox FR (1979) Molybdenum availability as predicted from selected soil chemical properties. *Agronomy Journal* 71, 63-65.

- Kohl, D. H., Bryan, B. A., and Shearer, (1983) G. Relationship between N_2 -fixing efficiency and natural ^{15}N enrichment of soybean nodules. *Plant Physiology* 73, 514-516.
- Kohl, D.H.; Shearer, G.B. (1995) Using variation in natural ^{15}N abundance to investigate N cycle processes. In: Wada, E.; Yoneyama, T.; Minagawa, M.; Ando, T.; Fry, B.D., ed. *Stable Isotopes in the Biosphere*. Kyoto, Japan :Kyoto University Press, p. 103-130.
- Kubota J (1980) Regional distribution of trace elements problems in North America. In 'Applied Soil Trace Elements'. (Ed. BR Davis) pp. 441-466. (Wiley: New York)
- Kubota J, Allaway WH (1972) Geographic distribution os trace element problems. In 'Micronutrients in Agriculture'. (Eds JJ Mortved, PM Giordano, and WL Lindsay) pp. 525-554. (Soil Science Society of America: Madison)
- Lang F, Kaupenjohann M (2000) Molybdenum al German Norway spruce sites: Contents and mobility. *Canadian Journal of Forest Reserach* 30, 1035-1040.
- Ledgard SF (1989) Nutrition, moisture and rhizobial strain influence isotopic fractionation during N_2 fixation in pasture legumes. *Soil Biology and Biochemistry* 21, 65-68.
- Lima E, Boddey RM, Dobereiner J (1987) Quantification of biological nitrogen fixation associated with sugar-cane using a ^{15}N aided nitrogen balance. *Soil Biology and Biochemistry* 19, 165-170.
- Lindsay WL (1972) Inorganic phase equilibria micronutrients in soils. In 'Micronutrients in Agriculture'. (Eds JJ Mortved, PM Giordano, and WL Lindsay) p. 41. (Soil Science Society of America: Madison)
- Lombin G (1985) Micronutrient soil tests for the semi-arid savannah of Nigeria: Boron and Molybdenum. *Soil Science and Plant Nutrition* 31, 1-11.
- Malavolta E., Oliveira, P.C., Vitti, G. (1997) 'Avaliação da fertilidade do solo e do estado nutricional das plantas.' Potafos – Piracicaba/SP.
- Mandal B, Pal S, Mandal LN (1998) effect of molybdenum, phosphorus, and lime application to acids soils on dry matter yield and molybdenum nutrition on lentil. *Journal of Plant Nutrition* 21, 139-147.
- Mariotti A (1983) Atmospheric nitrogen is a reliable standard for natural ^{15}N abundance measurements. *Nature* 303, 685-687.
- MARSCHNER H (2001) 'Mineral Nutrition of Higher Plants.' (Academic Press: San Diego)
- Mckenzie RM (1983) The adsorption of molybdenum on oxide surfaces. *Australasian Journal of Soil Research* 21, 503-513.

- Mendel RR, Schwarz G (1999) Molybdoenzymes and molybdenum cofactor in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* **18**, 33-69.
- MENGUEL K, KIRKBY EA (1982) 'Principles of Plant Nutrition.' (Int. Potash Institute Publishers:
- Michael Coughlan (1980) 'Molybdenum and Molybdenum-containing Enzymes.' (Pergamon Press: London)
- Mitchell RL (1964) *Trace Elements in Soil*. In 'Chemistry of Soils'. (Ed. FE Bear) pp. 320-368. (Van Nostrand Reinhold: New York)
- Montalbini P (1992) Inhibition of hypersensitive response by allopurinol applied to the host in the incompatible relationship between *Phaseolus vulgaris* and *Uromyces phaseoli*. *Journal of Phytopathology* **134**, 225-231.
- Montalbini P (1992) Ureides and enzymes of ureide synthesis in wheat seeds and leaves and effect of allopurinol on *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* infection. *Plant Science* **134**, 89-102.
- Moura JJG, Xavier AV (1978) Molybdenum in proteins. In 'New Trends in Bioinorganic Chemistry'. (Eds RJP Williams and JJRF Da Silva) pp. 79-119. (Academic Press: New York)
- Mulder EG (1948) Importance of molybdenum in the nitrogen metabolism of microorganisms and higher plants. *Plant Soil* **1**, 94-119.
- MUNTER, R.C.; HAVELSON, T.L. & ANDERSON, R.D. Quality assurance of plant tissues analysis by ICP-AES. *Communications in soil science and plant analysis*, **15**: 1285-1322, 1984.
- NICHOLAS, D.J.D. & FIELDING, A.H. THE USE OF *Aspergillus niger* (M) for determination of magnesium, zinc, copper, and molybdenum available in soil to crop plants. *Journal of Horticultural Science*, **26**: 125-147, 1951.
- Nõmmik, H., Pluth, D. J., Larsson, K., and Mahendrappa, M. K. , (1994) Isotopic fractionation accompanying fertilizer nitrogen transformations in soil and trees of a Scots pine ecosystem. *Plant and Soil*, 158.
- Ochiai EI (1987) 'General principles of Biochemistry of the Elements.' (Plenum Press: New York)
- Octávio Costa Oliveira. *Quantificação da contribuição da fixação biológica de nitrogênio associada à cultura do arroz inundado*. Dissertação de Mestrado – Agronomia/Ciência do Solo. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1994. Seropédica/RJ. 190p.

- Olivares, F.L.; James, E.K.; Baldani, J.I. & Dobereiner, J. (1997) Infection of mottled stripe disease-susceptible and resistant sugar cane varieties by the endophytic diazotroph *Herbaspirillum*. *New Phytologist*, v. 135, p. 723-737.
- OLIVARES, F.L.; BALDANI, J.I.; DOBEREINER, J. **Avanços na pesquisa com fixação biológica de nitrogênio em cana-de-açúcar**. Seropédica: Embrapa, 1997. (Série Documentos, 5).
- Orlando Filho J (1983) 'Nutrição e adubação da cana-de-açúcar no Brasil.' (Instituto do açúcar e do álcool: Piracicaba)
- Orlando Filho, J. O., Macedo, N., and Tokeshi, H. Seja doutor de seu canavial. *Informações Agronômicas*, 67, 1994. Piracicaba, POTAFOS.
- ORLANDO FILHO, J.O. & CAMPOS, H. Numero ideal de folhas para diagnose foliar em cana-de-açúcar (acna-planta). *Brasil Açucareiro*, 85: 10-17, 1975.
- ORLANDO FILHO, J.O. & HAAG, H.P. Numero ideal de folhas para diagnose foliar em cana-de-açúcar (soqueira). *Brasil Açucareiro*, 85: 23-29, 1975.
- ORLANDO FILHO, J.O.; ZAMBELLO JR., E. & HAAG, H.P. Levantamento do estado nutricional de N, P, K, Ca, Mg e S em 16 variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) pela análise foliar. *Brasil Açucareiro*, 96: 21-30, 1980.
- Parisch RV (1977) 'The Metalic Elements.' (Longman: New York)
- Pasrchira NS, Nayyar VK, Singh R (1997) Molybdenum in the tropics. In 'Molybdenum in Agriculture'. (Ed. Umesh C. Gupta) pp. 245-270. (Press Syndicate of the University of Cambridge: Cambridge)
- Pate JS, Stewart GR, Unkovich M (1993) ^{15}N natural abundance of plant and soil components of a *Banksia* woodland ecosystem in relation to nitrate utilization, life form, mycorrhizal status and N_2 -fixing abilities of component species. *Plant, Cell and Environment* 16, 365-373.
- Paul, E.A.; Clarck, G. Nitrification. In: Paul, E.A.; Clarck, G., ed. *Soil Microbiology and Biochemistry*. New York :University Press, 1997. p. 125-147.
- Peoples MB, Bergersen FJ, Brockwell J, Fillery IRP, Herridge DF (1995) Management of nitrogen for sustainable agricultural systems. In 'Nuclear methods in soil-plant aspects of sustainable agricultural systems'. pp. 17-35. (IAEA: Vienna, Austria)
- Peoples MB, Bergersen FJ, Turner GL, Sampet C, Rerkasem B, Bhromsiri A, Nurhayati DP, Faizah AW, Sudin MN, Norhayati M, Herridge DF (1991) Use fo the natural enrichment of ^{15}N in plant available soil N for the measurement of symbiotic N_2 fixation. In

'Stable Isotopes in Plant Nutrition, Soil Fertility and Environmental Studies'. pp. 117-119. (IAEA: Vienna)

Peoples MB, Herridge DF (2000) Nitrogen Fixation by legumes in tropical and subtropical agriculture. *Advances in Agronomy* 44, 155-223.

Peoples, M. B., Turner, G. L., Shah, Z., Shah, S. H., Aslam, M., Ali, S., Maskey, S. L., Bhattarai, S., Afandi, F., Schwenke, G. D., and Herridge, D. F. (1996) Evaluation of the ^{15}N natural abundance technique for measuring N_2 fixation in experimental plots and farmer's fields. Hyderabad, India, ICRISAT. Proceedings of an International Workshop on Managing Legume Nitrogen Fixation in Cropping Systems of Asia.

Peoples, M.B.; Bergersen, F.J.; Turner, G.L.; Sampet, C.; Rerkasem, B.; Bhromsiri, A.; Nurhayati, D.P.; Faizah, A.W.; Sudin, M.N.; Norhayati, M.; Herridge, D.F. Use of the natural enrichment of ^{15}N in plant available soil N for the measurement of symbiotic N_2 fixation. Stable Isotopes in Plant Nutrition, Soil Fertility and Environmental Studies. Vienna :IAEA, 1991. p. 117-129.

Peoples, M.B.; Hebb, D.M.; Gibson, A.H. & Herridge, D.F. (1989) Development of the xylem ureide assay for the measurement of nitrogen fixation by Pigeonpea (*Cajanus cajan* (L) Millsp.). *Journal of Experimental Botany*, 40: 535-542.

PESSANDA, A.C. **Determinação espectrofotométrica de molibdênio em amostras de tecidos de plantas através do sistema de injeção em fluxo.** Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/ESALQ, 1988. 110p. Tese de Doutorado.

Pierzinsky GM, Crouch SR, Jacobs LW (1986) Use of direct current plasma spectrometry for the determination of molybdenum in plant tissue digests and soil extracts. *Communication in Soil Science and Plant Analysis* 17, 419-428.

Piper, C. S. and Beckwort, R. S. A new method for determination of molybdenum in plants. *Journal Society Chemical Industry*, 67, 1948.

Polidoro, J. C., Quesada, D M, Resende, A. S., Alves, B. J. R., and Boddey, R. M. (2000) Contribuição da fixação biológica de nitrogênio na cultura da cana-de-açúcar em condições de Campo. *Anais...FERTBIO 2000* 1, 457-458.

POLIDORO, J.C.; QUESADA, D.M.; RESENDE, A.S.; XAVIER, R.P.; DUNCAN, E.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S. Importância do molibdênio na eficiência de utilização de nitrogênio(N) e na produtividade da cultura da cana-de-açúcar, VAR. RB 72-454, cultivada em solo de baixa fertilidade. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE MANEJO E CONSERVAÇÃO DO SOLO E DA ÁGUA, 13, 2000. *Anais...* Bahia: 2000. V.751-752.

Potafos - Associação Brasileira para a Pesquisa da Potassa e do Fósforo. Simpósio sobre o monitoramento do estado nutricional para a recomendação da adubação de culturas. 1, 1998. Piracicaba, POTAFOS.

PURVIS, E.R. & PETERSON, N.K. Methods of soil and plant analysis for molybdenum. *Soil Science*, 81: 223-228, 1956.

QUIN, B.F. & WOODS, P.H. Automated catalytic method for determination of molybdenum in plant materials. *Analyst*, 104: 552-559, 1979.

Reddy KJ, Munn LC, Wang L (1997) *Chemistry and Mineralogy of Molybdenum in Soils*. In 'Molybdenum in Agriculture'. (Ed. UC Gupta) pp. 4-22. (Cambridge University Press: New York)

Reis, V.M.; Baldani, J.I.; Baldani, V.L.D. & Dobereiner, J. (2000) Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. *Critical Reviews Plant Science*, 19: 227-247.

Reisenauer HM (1956) Molybdenum content of alfalfa in relation to deficiency symptoms and response to molybdenum fertilization. *Soil Science* 81, 237-242.

Reisenauer HM, Tabikh AA, Stout PR (1962) Molybdenum reaction with soils and hydrous oxides iron, aluminum and titanium. *Soil Science Society Proceedings* 23-27.

Resende AS (2000) A fixação Biológica de Nitrogênio como suporte da nutrição nitrogenada da cultura da cana-de-açúcar: Uso de adubos verdes.

Reyes ED, Jurinak JJ (1967) A mechanism of molybdenum adsorption on Fe_2O_3 . *Soil Science Society American Journal* 31, 637-641.

Ritchie GSP (1988) A preliminary evaluation of resin extractable molybdenum as a soil test. *Communication in Soil Science and Plant Analysis* 19, 507-516.

ROBERTO DE AQUINO LEITE. *Avaliação do Estado Nutricional do Cafeeiro Conilon no Estado do Espírito Santo Utilizando Diferentes Métodos de Interpretação de Análise Foliar*. Universidade Federal de Viçosa, 1993. 87p. Tese de Doutorado.

ROBERTO DOS ANJOS DOS REIS JÚNIOR. *Diagnose Nutricional da Cana-de-Açúcar com uso do Sistema Integrado de Diagnóstico e Recomendação (DRIS)*. Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, 1999. 141p. Tese de Doutorado.

Robinson D (2001) Delta ^{15}N as an integrator of the nitrogen cycle. *Trends in Ecology & Evolution* 16, 153-162.

ROMHELD V, MARSCHNER H (1991) Functions of molybdenum in plants. In 'Micronutrients in Agriculture'. (Eds JJ MORTVEDT, FR COX, and RM WELCH) pp. 297-328. (Soil Science Society of America Inc.: Madison, Wisconsin)

- Ruschel AP, Henis Y, Salati E (2001) Nitrogen-15N tracing of N-fixation soil-grown sugar cane seedling. *Soil Biology and Biochemistry* 7, 181-182.
- Santos OS (1991) Molibdênio. In 'Micronutrientes na Agricultura'. (Ed. POTAFOS/CNPq) pp. 191-217. (Potafos/CNPq: Piracicaba)
- Shah VK, Ugalde RA, Imperial J, Brill WJ (1984) Molybdenum in nitrogenase. *Annual Review in Biochemistry* 53, 231-257.
- Shearer G, Kohl DH (1986) N₂-fixation in field settings: estimations based on natural ¹⁵N abundance. *Australian Journal Plant Physiology* 13:699-756.
- Shearer G, Kohl DH, Harper JE (1980) Distribution of ¹⁵N among plant parts of nodulating and nonnodulating isolines of soybeans. *Plant Physiology*, 66:57-60.
- Shearer G, Kohl DH, Virginia RA, Bryan BA, Skeeters JL, Nilsen ET, Sharifi MR, Rundel PW (1983) Estimates of N₂ fixation from variation in the natural abundance of N-15 in sonoran desert ecosystems. *Oecologia*, 56(2):365-373.
- Shearer, G., Duffy, J., Kohl, D. H., and Commoner, B. A steady state model of isotopic fractionation accompanying nitrogen transformations in soil. *Soil Science Society of America Proceedings* 38, 315-322. 1974.
- Shearer, G., Kohl, D. H., and Chien, S. H. The nitrogen-15 abundance in a wide variety of soils. *Soil Science Society of America Journal* 42, 899-902. 1978.
- Shearer, G.B.; Kohl, D.H. ¹⁵N abundance in N-fixing and non-N-fixing plants. In: Frigerio, A., ed. *Recent Developments in Mass Spectrometry in Biochemistry and Medicine*. New York :Plenum Press, 1978. p. 605-622.
- Shearer, G.B.; Kohl, D.H. Information derived from variation in the natural abundance of ¹⁵N in complex biological systems. In: Buncel, E.; Saunders, W.H.J., ed. *Heavy Atom Isotope Effects*. Amsterdam : Elsevier, 1992. p. 133-187.
- Shearer, G.B.; Kohl, D.H. Natural abundance of ¹⁵N: Fractional contribution of two sources to a common sink and use of isotope discrimination. In: Knowles, R.; Blackburn, T.H., ed. *Nitrogen Isotope Techniques*. New York : Academic Press, 1993. p. 89-125.
- Shrestha, R.K. & Ladha, J.K. (1998) Nitrate in groundwater and integration of nitrogen-cath crop in rice-sweet pepper cropping system. *Soil Science Society of America Journal*, 62: 1610-1619
- SIDRA-IBGE. Insumos Agrícolas; Fertilizantes. Disponível: Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA - 97, 2001. <http://www.sidra.ibge.gov.br>.

- SIDRA-IBGE. Produtividade; Cana-de-açúcar. Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA - 97, 2001.
- Sims JL (1989) Evaluation of an anion exchange resin method for plant available molybdenum in New Zealand soils. *Communication in Soil Science and Plant Analysis* **20**, 61-74.
- Sims JL, Eivazi F (1997) 'Testing for Molybdenum Availability in Soils.' (Cambridge University Press: New York)
- Sims JL, Leggett JE, Reddy KJ (1979) Molybdenum and sulfur effects on growth, yield and selected chemical constituents of burley tobacco. *Agronomy Journal* **71**, 75-77.
- SIMS, J.L. & CRUTCHFIELD, J. **Determination of molybdenum in plants.** University of Georgia: University of Georgia Southern Cooperative, 1992. (Plant Analysis Reference Procedures for the Southern Region of the United States -, 368).
- Sinha MK (1971) Organo-metalic phosphates. *Plant Soil* **35**, 471-481.
- Siqueira C, Velloso AC (1978) Adsorção de Molibdato em solos sob vegetação de cerrado. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* **2**, 24-28.
- Smith C, Brown KW, Deuel Jr. LE (1987) Plant availability and uptake of molybdenum as influenced by soil type and competing ions. *Journal Environmental Quality* **16**, 377-382.
- Smith KS, Balistrieri LS, Smith SM, Sverson RC (1997) Distribution and Mobility of Molybdenum in the Terrestrial Environment. In 'Molybdenum in Agriculture'. (Ed. UC Gupta) pp. 23-46. (Cambridge University Press: New York)
- Srivastava PC (1997) Biochemical Significance of Molybdenum in Crop Plants. In 'Molybdenum in Agriculture'. (Ed. UC Gupta) pp. 47-70. (Cambridge University Press: New York)
- Steinberg RA (1936) Relation of accessory growth substances to heavy metals, including molybdenum, in the nutrition of *Aspergillus niger*. *Journal Agriculture Research* **52**, 439-448.
- Steinberg RA (1937) Role of molybdenum in the utilization of ammonium and nitrate nitrogen by *Aspergillus niger*. *Journal Agriculture Research* **55**, 891-902.
- STOUTH PR, MEAGHER WR, PEARSON GA, JOHNSON CM (1951) Molybdenum nutrition of crop plants. Part I: The influence of phosphate and sulfate on the absorption of molybdenum from soils and solutions cultures. *Plant and Soil* **3**, 51-87.
- SUMNER, M.E. Effect of corn leaf sampled on N, P, K, Ca and Mg content and calculated DRIS indices. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, **8**: 269-280, 1977.

- THORNTON, R.H. *Aspergillus niger*: and the estimation of molybdenum available in soil. New Zealand Soil News, 3: 42-44, 1953.
- Tokeshi H (1992) CANA-DE-AÇÚCAR. In 'Micronutrientes na Agricultura'. (Ed. POTAFOS) pp. 249-510. (POTAFOS: Campinas)
- Turner GL, Bergersen FJ, Tantala H (1983) Natural enrichment of ^{15}N during decomposition of plant material in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 15(4):495-497.
- Turner GL, Gault RR, Morthorpe L, Chase DL, Bergersen FJ (1987) Differences in the natural abundance of ^{15}N in the extractable mineral nitrogen of cropped and fallowed surface soils. *Aust.J.Agric.Res.* 38: 15-25.
- Turner GL, Gault RR, Morthorpe L, Chase DL, Bergersen FJ (1987) Differences in the natural abundance of ^{15}N in the extractable mineral nitrogen of cropped and fallowed surface soils. *Australian Journal Agricultural Research*, 38:15-25.
- Unkovich MJ, Pate JS (2000) An appraisal of recent field measurements of symbiotic N_2 fixation by annual legumes. *Field Crops Research* 65, 211-228.
- Unkovich, M.J.; Pate, J.S.; Lefroy, E.C. & Arthur, D.J. (2000) Nitrogen isotope fractionation in the fodder tree legume tagasaste (*Chamaecytisus proliferus*) and assessment of N_2 fixation inputs in deep sandy soils of Western Australia. *Australian Journal of Plant Physiology*, 27: 921-929.
- Urquiaga S, Cruz KHS, Boddey RM (1992) Contribution of nitrogen fixation to sugar cane: Nitrogen-15 and nitrogen-balance estimates. *Soil Science Society of America Journal* 56, 105-114.
- Urquiaga S, Zapata F (2000) Eficiencia da fertilização nitrogenada y su relación con la productividad agrícola sostenible. In 'Manejo eficiente de la fertilización nitrogenada de cultivos anuales em América Latina e Caribe'. (Eds S Urquiaga and F Zapata) pp. 19-24. (Genesis: Porto Alegre/RS)
- Urquiaga S, Zapata F (2000) Eficiencia da fertilização nitrogenada y su relación con la productividad agrícola sostenible. In 'Manejo eficiente de la fertilización nitrogenada de cultivos anuales em América Latina e Caribe'. (Eds S Urquiaga and F Zapata) pp. 19-24. (Genesis: Porto Alegre/RS)
- Urquiaga, S. and Zapata, F. Manejo eficiente de la fertilización nitrogenada de cultivos anuales em América Latina y el Caribe. 2000. Porto Alegre, RS, ARCAL & Embrapa CNPAB.
- Urquiaga, S., Resende, A. S., Alves, B. J. R., and Boddey, R. M. A importância do Molibdênio na fixação biológica de nitrogênio e na nutrição nitrogenada da cultura da cana-de-açúcar. XXIII Congresso Latino-americano de Ciência do Solo - Solo-Suelo, Águas de

Lindóia, São Paulo, Brasil. 4 a 8 de agosto de 1996, CD-ROM. 1986.
Ref Type: Electronic Citation

Vidor C, Perez JRR (1988) Nutrição das Plantas com Molibdênio e Cobalto. In 'Enxofre e Micronutrientes na Agricultura Brasileira'. (Eds CM Borkert and AF Lantmann) pp. 133-178. (Embrapa/IAPAR/SBCS: Londrina)

Vieira RF, Cardoso EJBN, Vieira C, Cassini STA (1998) Foliar application of molybdenum in common beans. I Nitrogenase and nitrate reductase activities in a soil of high fertility. *Journal of Plant Nutrition* **21**, 169-180.

Vieira RF, Vieira C, Cardoso EJBN, Mosquin PR (1998) Foliar application of molybdenum in common bean. II. Nitrogenase and nitrate reductase activities in a soil of low fertility. *Journal of Plant Nutrition* **21**, 2141-2151.

Vos RD (1993) 'Corn. *Nutrient Deficiencies and Toxicities in Plants*.' (APS Press: St Paul)

Vunkova-Radeva R, Schiemann J, Mendel RR, Salcheva G, Georgieva D (1988) Stress activity of molybdenum containing complex (molybdenum cofactor) in winter wheat seeds. *Plant Physiology* **87**, 533-535.

WILSON, O.D. **Determination of molybdenum in plants by graphite furnace.** University of Georgia: University of Georgia Southern Cooperative, 1992. (Plant Analysis Reference Procedures for the Southern Region of the United States -, 368).

Wright RJ, Hossber LR (1984) Molybdenum release from three Texas soils. *Soil Science* **138**, 374-376.

Xie RJ, Mackenzie AF (1991) Molybdate sorption-desorption in soils treated with phosphates. *Geoderma* **48**, 321-333.

Xie RJ, Mackenzie AF (1993) Causal modeling pH and phosphate effects on molybdate sorption in three temperate soils. *Soil Science* **155**, 385-397.

Yatsimirskii KB (1964) The use of catalytic reactions involving hydrogen peroxide in the study of the formation of complexes and in the development of very sensitive analytical methods. In 'Catalysis and chemical kinetics'. (Ed. AA Balandin) pp. 201-206. (Academic Press: New York)

Yoneyama T, Muraoka T, Kim TH, Dacanay EV, Nakanishi Y (1997) The natural ^{15}N abundance of sugarcane and neighbouring plants in Brazil, the Philippines and Miyako (Japan). *Plant and Soil* v. 189, p. 239-244.

Yoneyama, T.; Fujita, K.; Yoshida, T.; Matsumoto, T. & Kambayashi, I. (1986) Variation in natural abundance of ^{15}N among plant parts and in $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ fractionation during N_2 fixation in the legume rhizobia symbiotic system. *Plant Cell Physiology*. **27**(5):791-799.

ZAMBELLO JR., E. & ORLANDO FILHO, J.O. Aplicação do sistema integrado de diagnose e recomendação (DRIS) em três soqueiras de cana-de-açúcar. *Saccharum STAB*, 3: 23-28, 1980.

ZAMBELLO JR., E.; HAAG, H.P. & ORLANDO FILHO, J.O. Influência da época de amostragem foliar e do tipo de solo na diagnose foliar de soqueiras de cana-de-açúcar. *Saccharum STAB*, 2: 136-147, 1981.

ZAMBELLO JR., E.; HAAG, H.P.; ORLANDO FILHO, J.O. **Aplicação do sistema integrado de diagnose e recomendação (DRIS) em soqueira de cana-de-açúcar para diferentes épocas de amostragem foliar.** Piracicaba/SP: Panalsucar, 1981. (Boletim técnico, 1).

Zbiral J (1992) Determination of molybdenum in hot-water soil extracts: influence of pH and available iron on the molybdenum content. *Communication in Soil Science and Plant Analysis* **23**, 817-825.