

RENATO LEMOS DOS SANTOS

**MOLIBDÊNIO NO METABOLISMO E NA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE
NITROGÊNIO EM CANA-DE-AÇÚCAR**

**Tese apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ciência
do Solo da Universidade
Federal Rural de Pernambuco,
como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutor
em Ciência do Solo.**

**RECIFE/PE
DEZEMBRO/2014**

Ficha Catalográfica

S237m Santos, Renato Lemos dos
Molibdênio no metabolismo e na fixação biológica de
nitrogênio em cana-de-açúcar / Renato Lemos dos Santos. –
Recife, 2014.
135 f. : il.

Orientador: Fernando José Freire.
Tese (Doutorado em Ciências do Solo) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia,
Recife, 2014.
Referências.

1. *Saccharum* spp. 2. Adubação molíbdica 3. Adubação
nitrogenada 4. Absorção de N 5. Assimilação de N 6. Atividade
da nitrogenase 7. Atividade da redutase do nitrato 8. Produção
de matéria seca 9. Atributos tecnológicos I. Freire, Fernando
José, orientador II. Título

CDD 631.4

RENATO LEMOS DOS SANTOS

**MOLIBDÊNIO NO METABOLISMO E NA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE
NITROGÊNIO EM CANA-DE-AÇÚCAR**

**Tese apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ciência
do Solo da Universidade
Federal Rural de Pernambuco,
como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutor
em Ciência do Solo.**

Tese defendida e aprovada pela banca examinadora em 19 de dezembro de 2014.

Orientador:

Dr. Fernando José Freire

Examinadores:

Dr^a. Ana Dolores Santiago de Freitas

Dr. Alexandre Campelo de Oliveira

Dr. Fabio Lopes Olivares

Dr. Paulo Cesar Ocheuze Trivelin

“É como está escrito: Coisas que os olhos não viram, nem os ouvidos ouviram, nem o coração humano imaginou (Is 64,4), tais são os bens que Deus tem preparado para aqueles que o amam.”

I Coríntios 2, 9

A minha esposa, filha, pais, irmãos e amigos.

DEDICO E OFEREÇO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder a vida, a fé, a perseverança e a consciência de que não teria concluído este trabalho, da maneira que foi realizado, sem a ajuda de todos citados abaixo, e de outros, que por falta, esqueci de citar.

A minha esposa Monalisa e filha (Catarina), pela paciência, carinho, apoio, ... enfim, por todo amor; e aos seus pais Josiane e Manoel.

Aos meus pais, Gerivaldo e Vânia Santos, pelas lutas e sacrifícios para que tivéssemos oportunidade de estudar e seguir nossa vocação.

A meus irmãos: Bruno e sua esposa Karine; João Henrique (Riquinho) e sua esposa Aline; e Érika e seu noivo Diego; e a meus sobrinhos Clarinha e Lucas.

A toda a minha família.

Aos professores Fernando Freire (incansável) e Emídio Oliveira, pela amizade, companheirismo, orientação, paciência, apoio, ensinamentos e tempo dedicados durante todo o trabalho.

Aos professores Alexandre Oliveira, Ana Dolores Freitas, Everardo Sampaio e Paulo Trivelin por toda atenção, paciência e ensinamentos.

Aos professores do PPGCS, representados pelo prof. Valdomiro Souza Júnior, por conhecimento transmitido e dedicação.

A toda equipe da UFRPE que me ajudou na execução das atividades: Maércio (braço direito), Ruthanna (a mulher da nitrogenase), Danúbia, Luan, Priscila, em campo; a Patrícia Bezerra (meu braço direito), Jhônatha David, João Luna e Rogério Nascimento, “os detonadores de nitrato e amônio”, chovendo ou fazendo sol, campo ou laboratório.

Aos meus estimados alunos do IFPE/CVSA: Rafael Mendes, Renan Demésio, Maria Moura, José Barbosa (Juca), Lucas Soares, Nayara Lima, Nayara Rose, Larissa Costa,

Marianne Ângela, Ana Carolina Luz, Priscila, Rafaela Barbosa, Ricardo Silva e Erika Lima, que encararam dias longos de trabalhos, chovendo ou fazendo sol.

A Sr. Marcos e ao Laboratórios de Catálises do Departamento de Engenharia Química da UFPE, pela determinação da produção de etileno.

A professora Betânia e a todos os companheiros do Laboratório de Química do Solo: Márcio Fléquisson, Guilherme Medeiros, Renisson, Karina, Monaliza Alves, Anderson, João.

A Airon Silva, Andresa Ramos, João Paulo, Wagner Luís, Elaine Delarmelinda e todos os outros amigos que fiz durante as disciplinas prestadas no Programa.

A UFRPE, pela oportunidade de ingressar na profissão de Engenheiro Agrônomo, e seus funcionários, em especial Maria do Socorro, por todo apoio prestado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, por todo conhecimento adquirido e por toda a credibilidade.

A EECAC, representada por Djalma Simões Neto, Sr. Geraldo, Sr. Josias, Sr. Adauto, “Carpina” (José Leonildo), Kelly, D. Anunciada, pela parceria na realização do trabalho.

A Usina Petribu SA.

A todos os amigos e irmãos em Cristo do Grupo de Oração Cenáculo do Amor, Cleybson, Renata, Jesiel, Ana Paula (Anete), Ana Paula, Decol, Walmer, Ari, Iarla, Jéssica, D. Cicleide, D. Fátima, Ana Paula II, Orácio; e da Comunidade Servos de Maria do Coração de Jesus, Ir. Sildely, Ir. Rita, e a todos as irmãs e missionários.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para minha formação profissional e a realização deste trabalho.

Obrigado.

BIOGRAFIA

RENATO LEMOS DOS SANTOS, segundo filho dos quatro de Vânia Maria Lemos dos Santos e Gerivaldo João dos Santos, nascido em 17 de novembro de 1985, na cidade de Glória do Goitá, Pernambuco. cursou o ensino médio na antiga Escola Agrotécnica Federal da Vitória de Santos Antão/PE, onde também concluiu o curso Técnico em Agropecuária em 2003. Em 2004, ingressou no curso de Agronomia na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife/PE, graduando-se no primeiro semestre do ano de 2009. Em agosto de 2009 iniciou o curso de Mestrado em Agronomia, no Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo na UFRPE, finalizando em março de 2011. No mesmo mês e Programa de Pós-Graduação, iniciou o curso de Doutorado. Em novembro de 2011 casou-se com Monalisa Barbosa da Costa. Em julho de 2012 foi nomeado professor efetivo do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco, sendo lotado no *Campus* Vitória de Santo Antão. Em 30 de novembro de 2012 foi pai de uma linda menina, Catarina da Costa Santos (minha fofote).

SUMÁRIO

Lista de Figuras	x
Lista de Tabelas	xii
Resumo	xiv
Abstract	xv
Introdução Geral	16
Referências Bibliográficas.....	14
Capítulo I – Molibdênio como potencializador da atividade da redutase do nitrato em cana-de-açúcar	34
Resumo.....	35
Abstract.....	35
Introdução.....	36
Material e Métodos.....	37
Resultados e Discussão.....	42
Conclusões.....	54
Referências Bibliográficas.....	54
Capítulo II – Molibdênio como potencializador da fixação biológica de N em cana-de-açúcar	57
Resumo.....	58
Abstract.....	58
Introdução.....	59
Material e Métodos.....	60
Resultados e Discussão.....	66
Conclusões.....	76
Referências Bibliográficas.....	76
Capítulo III - Molibdênio como potencializador do acúmulo de biomassa e nitrogênio em cana-de-açúcar	80
Resumo.....	81
Abstract.....	81
Introdução.....	82
Material e Métodos.....	84
Resultados e Discussão.....	89
Conclusões.....	107
Referências Bibliográficas.....	107
Capítulo IV - Produtividade e qualidade tecnológica de cana-de-açúcar adubada com molibdênio e nitrogênio	111
Resumo.....	112
Abstract.....	112
Introdução.....	114
Material e Métodos.....	116
Resultados e Discussão.....	120
Conclusões.....	131
Referências Bibliográficas.....	131
Conclusões Gerais	135

Lista de Figuras

Título	Página
Capítulo I	
Figura 1. Precipitação pluviométrica durante o ensaio na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, em Carpina – PE.	38
Figura 2. Atividade da redutase do nitrato (ARN) na folha +1 de cana-de-açúcar na ausência e na presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP).	45
Figura 3. Atividade da redutase do nitrato (ARN) nas raízes de cana-de-açúcar na ausência e na presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP).	46
Capítulo II	
Figura 1. Precipitação pluviométrica durante o ensaio na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, em Carpina – PE.	61
Figura 2. Atividade da nitrogenase (AN) na folha +1 de cana-de-açúcar na ausência e presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP).	66
Figura 3. Atividade da nitrogenase (AN) nas raízes de cana-de-açúcar na ausência e presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP).	67
Figura 4. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ na folha +1 de cana-de-açúcar na ausência e presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP).	71
Capítulo III	
Figura 1. Precipitação pluviométrica durante o ensaio na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, em Carpina – PE.	85
Figura 2. Matéria seca da parte aérea (MSPA) de cana-de-açúcar na ausência e presença molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP).	90

Figura 3. Teor de molibdênio na parte aérea de cana-de-açúcar na ausência e presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP). 95

Figura 4. Teor de nitrogênio na parte aérea de cana-de-açúcar na ausência e presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP). 97

Figura 5. Acúmulo de molibdênio na parte aérea de cana-de-açúcar na ausência e presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP). 102

Figura 6. Acúmulo de nitrogênio na parte aérea de cana-de-açúcar na ausência e presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP). 105

Capítulo IV

Figura 1. Precipitação pluviométrica durante o ensaio na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, em Carpina – PE. 116

Figura 2. Teor de Mo no solo na camada de 0 a 0,2 m de profundidade cultivado com cana-de-açúcar na ausência e na presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP). 121

Figura 3. Teor de Mo no solo na camada de 0,2 a 0,4 m de profundidade cultivado com cana-de-açúcar na ausência e na presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP). 125

Lista de Tabelas

Título	Página
Capítulo I	
Tabela 1. Atributos químicos e físicos do solo em diferentes profundidades na área do ensaio de campo na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, em Carpina – PE	40
Tabela 2. Teor de molibdênio na folha +1 e nas raízes das variedades de cana-de-açúcar RB867515 e RB92579 na ausência e presença de molibdênio e na ausência e presença de nitrogênio aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP)	43
Tabela 3. Teor de nitrato na folha +1 e nas raízes das variedades de cana-de-açúcar RB867515 e RB92579 na ausência e presença de molibdênio e na ausência e presença de nitrogênio aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP)	50
Tabela 4. Teor de amônio na folha +1 e nas raízes das variedades de cana-de-açúcar RB867515 e RB92579 na ausência e presença de molibdênio e na ausência e presença de nitrogênio aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP)	53
Capítulo II	
Tabela 1. Atributos químicos e físicos do solo em diferentes profundidades na área do ensaio de campo na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, em Carpina – PE	63
Tabela 2. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ em <i>Dactyloctenium aegyptium</i> na ausência e presença de nitrogênio em diferentes tempos de crescimento da planta	73
Tabela 3. Estimativa da percentagem do N derivado da atmosfera em diferentes variedades de cana-de-açúcar, submetidas a adubação nitrogenada e molíbdica aos 100 dias após o plantio (DAP), análise da variância e coeficiente de variação dos dados	74
Capítulo III	
Tabela 1. Atributos químicos e físicos do solo em diferentes profundidades na área do ensaio de campo na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, em Carpina – PE	87
Tabela 2. Teores de Mo e de N em componentes da parte aérea de variedades de cana-de-açúcar submetidas a doses de N e de Mo aos 365 dias após o plantio (DAP), coeficiente de variação	100
Capítulo IV	
Tabela 1. Atributos químicos e físicos do solo em diferentes profundidades na área do ensaio de campo na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, em Carpina – PE	117
Tabela 2. Produtividade de colmos (TCH) e de Pol (TPH) de diferentes	126

variedades de cana-de-açúcar submetidas a aplicação de N e de Mo aos 365 dias após o plantio (DAP)

Tabela 3. Pureza, açúcares redutores (AR), sólidos solúveis e percentagem de sacarose aparente no caldo (Pol) de diferentes variedades de cana-de-açúcar submetidas a aplicação de N e de Mo aos 365 dias após o plantio (DAP) 129

Tabela 4. Fibra, Pol na cana (PC) e açúcar teórico recuperável (ATR) no colmo de diferentes variedades de cana-de-açúcar submetidas a aplicação de N e de Mo aos 365 dias após o plantio (DAP) 130

RESUMO

No Brasil se cultiva a cana-de-açúcar desde o período colonial, sendo atualmente o maior produtor mundial. Por conta da sua importância econômica para o país, centros de melhoramento vegetal vêm selecionando variedades mais promissoras para a produção de açúcar e/ou etanol. Entretanto, para que esses genótipos desenvolvam seu potencial produtivo e tecnológico necessita-se do maior conhecimento sobre a sua nutrição, principalmente no que se refere à absorção de N. O N é um nutriente muito requerido pela cultura e seu manejo inadequado, pode levar a redução da produtividade de colmos. Contudo, a fertilização nitrogenada pouco contribui com o N absorvido no ciclo de cana planta e, desta forma, se fazem necessários mais estudos que objetivem aumentar a eficiência de absorção do N mineral do solo e até mesmo possibilitar ou aumentar a absorção de outras fontes de N, como o N₂ atmosférico. Por outro lado, o Mo é um nutriente que tem relação direta com a absorção/assimilação de N, seja por fazer parte da composição da redutase do nitrato em plantas, seja por compor a nitrogenase em bactérias que realizam a fixação biológica de N (FBN). Deste modo, ambas as enzimas têm suas atividades reguladas pelo Mo. Uma vez absorvido pela cana, o Mo pode atuar como potencializador da atividade dessas enzimas, podendo aumentar a assimilação de N e a produtividade de colmos da cultura. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do Mo na atividade das enzimas redutase do nitrato e nitrogenase, na fixação biológica e no acúmulo de N, de Mo e de biomassa em diferentes variedades de cana-de-açúcar no ciclo de cana planta, bem como quantificar estes efeitos na produtividade de colmos e nas variáveis tecnológicas da cultura. Para isso, foi realizado um experimento em campo utilizando duas variedades de cana-de-açúcar (RB92579 e RB867515), submetidas a duas doses de N (0 e 60 kg ha⁻¹) e duas doses de Mo (0 e 200 g ha⁻¹). Aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP) foram avaliadas as atividades das enzimas redutase do nitrato (ARN) e nitrogenase (AN), os teores Mo, N, NO₃⁻ e NH₄⁺ na folha +1 e nas raízes das variedades. Adicionalmente, avaliou-se o δ¹⁵N, a fixação biológica de N e os acúmulos de N, Mo e de biomassa. Aos 0, 30, 70, 100, 130, 200 e 365 DAP determinou-se o teor de Mo no solo nas camadas de 0,0 a 0,2 m e 0,2 a 0,4 m de profundidade. Aos 365 DAP, foi avaliada a produtividade de colmos e a qualidade tecnológica das variedades de cana-de-açúcar. A aplicação de Mo elevou o seu teor no solo, na folha +1 e nas raízes da cana-de-açúcar e potencializou a ARN. A ARN na RB92579 foi maior que na RB867515. A AN foi maior na variedade RB92579, tanto na folha +1, como nas raízes. A adubação com Mo potencializou a AN na variedade RB867515 e reduziu na RB92579. As variedades RB867515 e RB92579 fixaram N, que foi potencializada pela adubação molíbdica, principalmente na ausência de N. A ARN e AN foram máximas por cerca de 100 DAP. A aplicação de Mo ainda elevou os acúmulos de: MSPA da RB92579 na ausência da fertilização nitrogenada; de Mo na RB867515 e RB92579, respectivamente na presença e ausência da aplicação de N; e de N nas variedades, independente de sua aplicação, indicando-se a adubação molíbdica como prática complementar do manejo nutricional da cultura. A RB867515 respondeu a adubação molíbdica, tendo sua produtividade de colmos (TCH) e de Pol (TPH) aumentadas com a aplicação de 200 g ha⁻¹ de Mo.

Palavras-chave: *Saccharum* spp., adubação molíbdica, adubação nitrogenada, absorção de N, assimilação de N, atividade da nitrogenase, atividade da redutase do nitrato, produção de matéria seca, atributos tecnológicos.

ABSTRACT

Sugar cane has been cultivated in Brazil since the colonial period, and the country currently is the world's largest producer. Because of its economic importance to the country, plant breeding centers have been selecting the most promising varieties for the production of sugar and ethanol. However, for these genotypes to develop their full productive and technological potential there is a need for a greater understanding of their nutrition, especially with regard to the N uptake. N is a required nutrient by the culture and its inadequate management can reduce sugar cane yield. However, the N fertilization contributes little to the N absorbed in the plant cane cycle, so further studies are needed with the aim to increase the absorption of the mineral N in the soil N, and even facilitate or increase the uptake of other N sources, such as atmospheric N₂. On the other hand, Mo is a nutrient that is directly related to the N absorption/assimilation, either as part of the composition of the nitrate reductase in plants or as part of the nitrogenase in bacteria that perform biological N fixation (BNF). Thus, the activities of both these enzymes are regulated by their Mo. Once absorbed by sugar cane, Mo can act as enhancer of the activity of these enzymes, which could increase the N assimilation and sugar cane yield of the crop. The aim of this study was to evaluate the effect of Mo in the enzymes activities of the nitrate reductase and nitrogenase, and its effect in the biological fixation and accumulation of N, Mo and biomass in different varieties of sugar cane in plant cane cycle, as well as to quantify these effects in sugar cane yield and technological parameters of culture. To this aim and under field conditions, two varieties of sugar cane (RB867515 and RB92579) were grown and submitted to two N levels (0 and 60 kg ha⁻¹) and two Mo levels (0 and 200 g ha⁻¹) in a 2 x 2 x 2 factorial design. The activities of nitrate reductase (NRA) and nitrogenase (AN), the Mo content, N, NO₃⁻ and NH₄⁺ in the leaf +1 and the roots of the two varieties were evaluated at 70, 100, 130, 200 and 365 days after planting (DAP). In addition, we assessed the δ¹⁵N, BNF and accumulation of N, Mo and biomass. The Mo content in the soil in layers from 0.0 to 0.2m and 0.2 to 0.4 m was determined at 0, 30, 70, 100, 130, 200 and 365 DAP. The sugarcane yield and technological quality of the sugar cane varieties were evaluated at 365 DAP. The Mo application increased its content in soil, leaf +1 and roots of sugar cane and enhanced the NRA. NRA in RB92579 was higher than in RB867515. AN increased more both in the leaf +1 and the root in the RB92579 variety. Mo fertilization enhanced the AN in the RB867515 variety and reduced the AN in the RB92579 variety. Both the RB867515 and RB92579 varieties fixated N, and this N fixation was enhanced by Mo applied, especially in the N absence. The NRA and AN had their maximum at about 100 DAP. The Mo application also increased the aboveground biomass accumulation in the RB92579 variety in the absence of N fertilization. The Mo application increased the Mo accumulation in the N fertilized RB867515 variety, while in the RB92579 variety this effect only occurred in the absence of N fertilization. The Mo application also increased the N accumulation, independent N fertilization, indicating the Mo fertilization as a complementary practice to the nutritional management of the sugar cane. The RB867515 variety responded to Mo applied, and its sugar cane stalk and Pol yield increased with the application of 200 g Mo ha⁻¹.

Key words: *Saccharum* spp., Mo fertilization, N fertilization, N uptake, N assimilation, nitrogenase activity, nitrate reductase activity, aboveground biomass yield, technological attributes.

INTRODUÇÃO GERAL

A cultura da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) é oriunda da região leste da Indonésia e Nova Guiné (DANIELS & ROACH, 2006), sendo disseminada e cultivada na China, antes do início da era cristã, e na Europa, pelos árabes. Foi introduzida no Brasil no início do século XVI, da Ilha da Madeira, por Martin Afonso de Souza na primeira expedição colonizadora ao país, constituindo-se numa das primeiras atividades de importância econômica da então colônia, onde foi disseminada principalmente para os estados do Nordeste (ROSA et al., 2005).

Atualmente, a cultura ainda é importante para a economia nacional, sendo o Brasil o maior produtor, responsável por 33% da produção mundial. Desse percentual, 56% são oriundos de São Paulo, maior produtor nacional, e Pernambuco é apenas o sétimo (JADOSKI et al., 2010; CONAB, 2014). De acordo com a Conab (2014), no Brasil a produção da safra 2013/2014 foi de 658,8 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, registrando aumento de 12% em relação à safra anterior, sendo destinados 45% para a produção de açúcar e 55% para produção de etanol.

Devido à comprovada importância da cultura para a economia nacional, anualmente, os centros de pesquisa em melhoramento vegetal distribuídos pelo país vêm selecionando híbridos que apresentem resistência a pragas e doenças, elevadas produtividades, e bons indicadores de qualidade das variáveis tecnológicas, como: teor de fibra e de açúcar recuperável na cana; pureza, sólidos solúveis, açúcares redutores e percentagem de sacarose aparente no caldo (LIMA NETO et al., 2013).

Entre as variedades cultivadas atualmente, a RB867515 foi a mais plantada em 2012, ocupando cerca de 29% das áreas comerciais no território nacional. Em Pernambuco essa variedade é a segunda mais plantada, ficando atrás da RB92579 que abrange cerca de 36% dos canaviais do estado, e é a terceira mais plantada no Brasil (CHAPOLA et al., 2012). A grande aceitação e uso desses dois genótipos de cana nas áreas produtoras do Brasil se dá pela moderada resistência a doenças e pelos seus elevados índices de qualidade e produtividade. Ambas as variedades apresentam crescimento lento (BARBOSA et al., 2001, 2003).

Desta forma, observa-se a necessidade do maior conhecimento da nutrição desses genótipos, principalmente no que se refere à absorção de N, uma vez que o manejo inadequado da adubação nitrogenada pode levar a redução da produtividade da cultura (VITTI et al., 2007).

A cana-de-açúcar e os nutrientes N e Mo

A importância do N para a cana-de-açúcar

O N é um nutriente muito absorvido pela cana-de-açúcar, sendo superado apenas pelo K, como foi observado por Oliveira et al. (2010), ao avaliarem a extração de nutrientes por nove variedades de cana-de-açúcar em Carpina-PE, encontraram valores médios de 179 e 325 kg ha⁻¹ de N e K, respectivamente. Isso porque o N faz parte de vários compostos nas plantas (aminoácidos, ácidos nucleicos, entre outros), atuando como ativador de muitas enzimas, e desta forma, participa das principais reações bioquímicas nas plantas (FIGUEIREDO et al., 2008).

Devido a sua importância para a cultura, diversos pesquisadores vêm desenvolvendo estudos avaliando as respostas da cana em produtividade em função da aplicação de N, sendo no ciclo de cana planta observados resultados controversos. Em avaliações realizadas em 135 experimentos em diferentes regiões do país, Azeredo et al. (1986) observaram que em 80% dos casos a cana planta não respondeu a adubação nitrogenada. Utilizando doses de N que chegaram a 120 t ha⁻¹, Franco et al. (2011) também não observaram respostas à adubação nitrogenada na produção de biomassa aérea na SP813250, quando cultivada em Pirassununga – SP. Entretanto, quando a mesma variedade foi cultivada em Jaboticabal – SP, foi observado aumento de biomassa até a dose de 80 kg ha⁻¹ (FRANCO et al., 2011).

Bologna-Campbell (2007) observou resposta linear da cana-de-açúcar à adubação nitrogenada, alcançando aumento de 55% na produtividade com a dose de 120 kg ha⁻¹, em experimento conduzido em vasos com Neossolo Quartzarênico até 16 meses após o plantio. De maneira semelhante, Oliveira (2012a) em estudo realizado em três ambientes do nordeste brasileiro, observou variação positiva da produtividade da cultura como resposta ao aumento da dose de N.

A variação de resposta à adubação nitrogenada apresentada pela cultura, no ciclo de cana planta, aparentemente, tem relação direta com a sua principal fonte de N, que não é mineral, uma vez que apenas 10 a 16% do N absorvido do solo pela cana são oriundos da fertilização nitrogenada (TRIVELIN et al., 1995; GAVA et al., 2003). Isso pode ser evidenciado no trabalho desenvolvido por Franco et al. (2011), ao utilizarem fertilizante enriquecido com ¹⁵N no cultivo da cana. Segundo os autores ao longo do desenvolvimento da cana, a contribuição do fertilizante no N absorvido variou de 15 a 44% aos 134 dias após o plantio e de 5 a 13% na colheita, no ciclo de cana planta,

enquanto uma fonte não mineral, que não foi identificada, contribuiu mais para a nutrição.

Esse comportamento ainda pode ser reforçado pela comparação entre o N aplicado ao solo e o absorvido pela cana. Umesh et al. (2013), na Índia em condições de campo, observaram cana-de-açúcar extraíndo em torno de 100 kg ha⁻¹ de N, no entanto, só foram aplicados 75 kg ha⁻¹ de N, um déficit de 25 kg ha⁻¹ de N, em relação ao incorporado ao solo, para uma produtividade de 47 t ha⁻¹ sem considerar as perdas do sistema, que podem ultrapassar 50% do fertilizante aplicado (BOUWMAN et al., 2005). Ainda, Oliveira et al. (2011) ao avaliarem o acúmulo e a alocação de nutrientes na parte aérea de variedades de cana-de-açúcar, observaram que só a quantidade de N extraída pelo colmo (92 kg ha⁻¹ de N) foi superior à quantidade de N aplicado na fertilização (80 kg ha⁻¹ de N).

Dessa forma, se sugere a necessidade de estudos que objetivem aumentar a eficiência de absorção do N mineral do solo e até mesmo possibilitar ou aumentar a absorção de outras fontes de N. No que se refere à absorção de N mineral do solo, deve-se incentivar o desenvolvimento de estudos com enzimas que participam da assimilação do nutriente, como a redutase do nitrato, melhorando as relações nutricionais do N com a cana, visando incrementos de produtividade de colmos.

A importância do Mo para cana-de-açúcar

O Mo é um metal requerido por animais e plantas para o crescimento e desenvolvimento, participando de diversas enzimas. Nas plantas, faz parte da composição de enzimas como a redutase do nitrato e a aldeído oxidase, e em microrganismos que realizam a FBN, compõe a nitrogenase, como mencionado anteriormente (KAISER et al., 2005; FITRI et al., 2008; HERNANDEZ et al., 2008).

No solo, o Mo é um elemento traço e está presente principalmente como molibdato, forma aniônica, tendo sua disponibilidade influenciada por propriedades químicas e mineralógicas. Entre as características químicas do solo, o pH influencia significativamente a disponibilidade do nutriente, sendo reduzida em solos de elevada acidez, com pH abaixo de 5 (BRENNAN & BOLLAND, 2007; LÓPEZ et al., 2007). A elevação de uma unidade em um solo de pH 3, pode aumentar a disponibilidade de Mo em 100 vezes, sendo desta forma, necessária a correção de solos ácidos para aumentar a sua disponibilidade (KAISER et al., 2005). Uma alternativa à correção da acidez do solo para aumentar o teor de Mo disponível no solo, é realizar a sua fertilização. Em áreas onde a aplicação de calcário era inviável, Brennan & Bolland (2007) na Austrália

observaram que a produtividade de trigo foi elevada com aplicação de Mo em solos com pH médio de 4,3. O incremento na produção de grãos nesses solos só foi obtido com o aumento de até 100% da dose recomendada do micronutriente. Em relação à mineralogia do solo, a disponibilidade de Mo pode ser reduzida pela presença de óxidos de Fe e de Al (VISTOSO G et al., 2009).

A pesar da importância do Mo para o cultivo da cana-de-açúcar, a sua aplicação no manejo nutricional não tem sido empregada em cultivos comerciais e ainda, poucos estudos têm sido direcionados ao acompanhamento das alterações de indicadores enzimáticos e de produtividade. Entretanto, já se observam respostas positivas em na produção pela aplicação do micronutriente.

Alvarez & Wutke (1963) indicaram respostas positivas da cana-de-açúcar a aplicação de Mo, proporcionando acréscimos na produtividade de colmos da ordem de 19 Mg ha⁻¹. Oliveira (2012) avaliando o efeito da interação da adubação nitrogenada e molíbdica sobre a produção da cana observou incrementos positivos na produtividade de colmos. Segundo o autor a produção obtida com a aplicação de 120 kg ha⁻¹ de N foi a mesma da combinação de 60 kg ha⁻¹ de N e 200 g ha⁻¹ de Mo. E ainda, quando não se adubou com N foram observados incrementos de até 9 Mg ha⁻¹ de colmo, com a maior dose de Mo, que foi de 1.600 g ha⁻¹.

Nesse contexto, a elevação dos teores de Mo disponível no solo pode aumentar a absorção do N mineral e/ou elevar a eficiência do processo da FBN e da produção da cana-de-açúcar, pela relação direta existente entre o micronutriente e a atividade das enzimas redutase do nitrato e nitrogenase.

A cana-de-açúcar e as enzimas redutase do nitrato e nitrogenase

A importância da redutase do nitrato

No solo, cerca de 95% do N total encontra-se na forma orgânica, sendo o restante composto por formas inorgânicas, principalmente NH₄⁺ e NO₃⁻. Entretanto, a pesar de haver preferência em absorver a forma amoniacal, a cana absorve maior quantidade da forma nítrica, pela sua predominância em solos aerados (ROBINSON et al., 2011).

O N-NO₃⁻ absorvido pelas raízes pode ser assimilado, dependendo de sua disponibilidade e da espécie vegetal, no próprio órgão ou em órgãos aéreos. No entanto, para que essa forma de N seja assimilada, para compor aminoácidos e proteínas, é necessário que seja reduzida a NH₄⁺, sendo este processo iniciado pela enzima redutase do nitrato, que, no citossol, reduz o NO₃⁻ a NO₂⁻ (CARVALHO et al., 2006). Sendo

assim, quanto maior for a atividade da redutase do nitrato, maior será a assimilação de N pela cana.

A redutase do nitrato é considerada uma flavoproteína formada por duas subunidades idênticas, sendo cada uma composta por flavina adenina dinucleotídeo, Fe-heme e molibdopterina, podendo ser encontrada no citossol das células corticais e nas células do mesófilo da parte aérea. Como o Mo é um componente essencial na redutase do nitrato, atua como regulador de sua atividade ou fluxo catalítico. Além do Mo a atividade da redutase do nitrato (ARN) também pode ser afetada pela disponibilidade de N no meio, principalmente pelo N-NO_3^- . Em ambos os casos a concentração no meio e a ARN são diretamente proporcionais (VAUGHN & CAMPBELL, 1988; CAMPBELL, 1999; DONATO et al., 2004).

Nesse contexto, quando uma planta se encontra deficiente em Mo, a formação e a ARN é reduzida ou nula, não sendo iniciada a primeira etapa da redução do NO_3^- à NH_4^+ , ou seja, há redução da assimilação de N, com conseqüente redução do crescimento e produtividade (KAISER et al., 2005).

Em experimento conduzido com variedades de cana-de-açúcar em sistema hidropônico com areia, Li-Ping et al. (2007) observaram que a ARN foi maior quando as canas foram cultivadas na presença de N. Os autores ainda relataram que a ARN foi elevada pelo aumento da concentração de Mo na solução nutritiva, no entanto, os incrementos não foram proporcionais, nem constantes, tanto na presença quanto na ausência de N.

Jongruaysup et al. (1994) observaram que quando o feijão-da-Índia (*Vigna mungo L.*) recebeu a dose de $0,64 \text{ mg kg}^{-1}$ de Mo, o acúmulo de N foi elevado em até 1.000% quando comparadas a testemunha, ou seja, com as plantas que não receberam Mo. Isso, possivelmente, foi devido ao aumento da ARN impulsionando pelo Mo. O ensaio foi desenvolvido na Austrália, em vasos contendo solo de textura franco-arenosa.

Weng et al. (2009) avaliaram o efeito de doses crescentes de Mo em *Chamaecrista rotundifolia*, *Fabaceae* perene, de porte herbáceo. De acordo com os autores a ARN e a produção de matéria seca foram afetadas pela aplicação do micronutriente. De maneira geral, a ARN se elevou a medida que houve aumento da dose de Mo, sendo as maiores diferenças observadas entre o tratamento que não recebeu e os tratamentos que receberam Mo. No experimento, a ARN nas plantas que não receberam Mo foi diferente das demais, indicando que o nível do nutriente preexistente no solo, $0,22 \text{ mg kg}^{-1}$, não foi suficiente para atender a demanda para a redução do NO_3^- a NO_2^- , na via de

assimilação do N-NO₃⁻. A produção de matéria seca apresentou comportamento semelhante à ARN, o que sugere que para o cultivo de *C. rotundifolia* em solos com teores de Mo menor ou igual a 0,22 mg kg⁻¹, se faz necessário a sua suplementação por meio de fertilizações molíbdicas.

Além da disponibilidade de NO₃⁻ e de Mo citados anteriormente, a ARN varia com os genótipos de cana-de-açúcar (HEMAPRABHA et al., 2013). Entre outros aspectos, a preferência de absorção por uma das formas de N, N-NO₃⁻ ou NH₄⁺, altera a atividade da enzima. Quanto maior a presença de NO₃⁻ no solo e havendo sua absorção, o que é mais comum (WANG et al., 2011), maior será a ARN na cana. Caso a preferência do genótipo seja por NH₄⁺, a ARN é baixa, podendo ser nula.

No experimento desenvolvido por Armas et al. (1992) foi observado que quando a cana-de-açúcar Ja605 é submetida a ambiente com o N-NH₄⁺ se desenvolve mais, apresentando maior altura, maior diâmetro do colmo, folhas mais compridas e mais largas, o que levou a maior produção de biomassa aérea. No entanto, a ARN nas folhas dessas plantas foi reduzida, representado apenas 45% do valor da atividade das plantas cultivadas com N-NO₃⁻. As avaliações foram realizadas em plantas com seis meses de idade e a cada 45 dias recebiam solução nutritiva com N na forma catiônica ou aniônica, em substrato composto por vermiculita e turfa.

Em pesquisa realizada em sistema hidropônico utilizando-se fertilizantes enriquecidos com ¹⁵N (¹⁵NH₄NO₃ e/ou NH₄¹⁵NO₃), Robinson et al. (2011) observaram que quando as variedades de cana (Q138, Q157 e Q179) tiveram contato com solução contendo elevada concentração de N com proporções semelhantes de NO₃⁻ e o NH₄⁺, por 24 h, elas absorveram mais a forma catiônica do nutriente. De acordo com os autores, a preferência na incorporação do NH₄⁺ a NO₃⁻ foi cerca de cinco e de quatro a dez vezes, respectivamente nas raízes e nos perfilhos.

A preferência por NH₄⁺ a NO₃⁻ por variedades de cana foi reforçada com experimentação em campo. Após abertura de trincheira e incubação *in situ* do sistema radicular, por 30 e 120 minutos, em solução nutritiva contendo fertilizante enriquecido com ¹⁵N, os autores ainda observaram que, independente do tempo de incubação, a absorção do N na forma catiônica foi superior a forma aniônica. Provavelmente, nesses dois casos a ARN foi baixa (ROBINSON et al., 2011).

Sabendo que o N na forma inorgânica no solo compreende apenas 5% do N total, sabendo também que sua concentração na solução do solo é baixa em relação à demanda da cultura e que a contribuição do fertilizante nitrogenado para o ciclo da cultura também é baixa, pode-se afirmar que a maior parte do nutriente absorvido pela

cana é oriunda da mineralização da matéria orgânica do solo e/ou da atmosfera (BOUWMAN et al., 2005; FRANCO et al., 2011; BAPTISTA et al., 2014). Esses fatos têm apoiado a hipótese que a cultura possa apresentar associação com bactérias que realizam a fixação biológica de nitrogênio (FBN), possibilitando a cana ter acesso a uma fonte importante de N, como a atmosfera, que pode fornecer significativas quantidades de N para a cultura, o que tende a reduzir o uso de insumos nitrogenados (OLIVEIRA et al., 2011b).

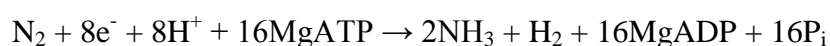
A importância da nitrogenase

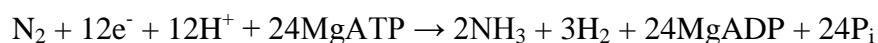
A nitrogenase é uma enzima constituída por duas unidades, uma redutora e outra catalítica. A unidade redutora chamada de dinitrogenase redutase ou Fe-proteína é responsável pela transferência de elétrons para a redução do N₂ (SMITH, 2002). Como a FBN só acontece por meio dos microrganismos que possuem a nitrogenase, a sua atividade na planta ou em seus órgãos, pode indicar a ocorrência do processo, sendo diretamente proporcionais.

Os microrganismos diazotróficos têm sua fisiologia intimamente ligada às propriedades da nitrogenase, como exemplo pode-se citar a suscetibilidade ao oxigênio e a disponibilidade dos metais estruturantes (Mo, V e Fe). Dependendo da disponibilidade dos metais estruturantes, a dinitrogenase pode ter três composições, MoFe-proteína, VFe-proteína e FeFe-proteína, a depender da disponibilidade dos metais no ambiente. No entanto, em ambientes onde há disponibilidade dos três metais a preferência de formação, em ordem decrescente é da dinitrogenase composta por Mo, V e Fe, ou seja, só há formação da unidade da nitrogenase com V quando o Mo não estiver mais disponível, e da que tem o Fe quando não há Mo e V disponíveis (WEARE et al., 2006; HERNANDEZ et al., 2008; YOSHIZAWA et al., 2010; HU et al., 2011).

As possíveis variações da segunda unidade da nitrogenase diferenciam-se também pela eficiência no uso de energia no processo de produção de NH₃ a partir do N₂, sendo o conjunto de reações mais eficientes os que acontecem por intermédio da MoFe-proteína (GUHA & PHUKAN, 2011), como demonstrado nas equações descritas abaixo. Nesse contexto, alterações nos componentes que compõem a enzima nitrogenase podem afetar a sua atividade, como o Fe e o Mo.

Sob condições ótimas, temperatura a 30 °C e quantidade saturante de N₂, a redução do N₂ a NH₃ pela nitrogenase de Mo e V ocorrem segundo as equações:





Como se pode observar, na produção de dois moles de NH_3 pela VFe-proteína o consumo de energia é 50% maior que a conversão realizada pela MoFe-proteína.

Depois do Fe, o Mo é o metal mais comum na dinitrogenase, constituindo-se um regulador enzimático. Sendo assim, a sua concentração no meio e incorporação a MoFe-proteína estão diretamente ligadas a AN, sendo diretamente proporcionais. Isso fica evidenciado no trabalho realizado *in vitro* por Hernandez et al. (2008), que ao sintetizarem a nitrogenase observaram que a produção de etileno, ou seja, a AN foi elevada com o aumento da concentração de Mo no meio e incorporação à dinitrogenase.

Li-Ping et al. (2007a) avaliaram o comportamento da AN em duas variedades de cana (RB72454 e RB867575) sob o efeito de quatro doses crescentes de Mo (0; 0,01; 0,02 e 0,04 mg L^{-1}), na ausência e presença de N. Segundo os autores, sob adubação nitrogenada as doses de Mo promoveram aumento da AN nas raízes e no colmo das variedades, e nas folhas apenas na RB72454. Na ausência de N, as doses de Mo elevaram a AN nas folhas e no colmo da variedade RB867575, mas reduziram a atividade da enzima nas folhas, colmo e raízes na RB72454, o que também evidencia a diferença de comportamento entre variedades, necessitando de mais estudos para cada genótipo.

Nesse contexto, se constata a importância do Mo na absorção de N para a cana-de-açúcar e, até mesmo para a produção de biomassa.

A cana-de-açúcar e a FBN

Um dos maiores reservatórios de N do planeta é a atmosfera, sendo estimado em $3,9 \cdot 10^{15}$ Mg, correspondendo a cerca de 78% dos gases que a compõe e apresenta-se em sua forma molecular como N_2 . Porém, por ser uma molécula muito estável, formada por dois átomos de N unidos por ligação tripla, as plantas não tem acesso direto a essa reserva (ADUAN et al., 2004).

Para o aproveitamento do N da atmosfera pelas plantas, se faz necessário a sua conversão a formas iônicas, e isso pode acontecer por três processos: a deposição atmosférica, na qual a ligação tripla do N_2 é quebrada pela energia dos raios (relâmpagos); a fixação industrial, processo que utiliza elevadas temperaturas e pressões para produção de amônia; e a FBN, realizada por microrganismos capazes de quebrar a tripla ligação do N_2 nas condições ambientais de temperatura e pressão (FIGUEIREDO

et al., 2008). Dessas vias de entrada, a FBN tem recebido especial atenção por possuir grande potencial para o suprimento de parte do N requerido pela cultura.

No ciclo global do N, se observa a entrada no solo de N atmosférico sem a presença ou uso de descargas elétricas e temperaturas elevadas, realizada por intermédio de organismos, estando ou não em associação com plantas, que possuem a enzima nitrogenase, capaz de reduzir N_2 a NH_3 (HU et al., 2011). A FBN em plantas não leguminosas se dá por meio da associação com bactérias diazotróficas presentes em diferentes partes da planta, como raiz, parte aérea (folhas e colmos) e na rizosfera (FERNANDES et al., 2012).

Anualmente, estima-se que a entrada de N por meio da fixação biológica associada a cana-de-açúcar alcance o valor de 500.000 Mg, correspondendo a cerca de 0,7 a 1% do N fixado nos agrossistemas. No entanto, as estimativas globais da FBN em cana-de-açúcar ainda são pouco confiáveis devido à variação dos valores encontrados por pesquisadores em todo o mundo (HERRIDGE et al., 2008).

Estimativas indicam que no Brasil, a FBN contribui com cerca de 10 a 20% do N total, no entanto, há estimativas superiores a estas (HERRIDGE et al., 2008). Em estudo realizado com a variedade NiF-8, Assis et al. (2002) estimaram que o N oriundo da FBN variou de 27 a 38% do N total, aos sete meses após o plantio, dependendo da planta referência e da idade da cana. Urquiaga et al. (2003), avaliando 10 variedades de cana-de-açúcar (CB 47-89, CB 45-3, SP701143, SP792312, SP711406, SP716163, SP701284, Krakatau e Chunnee) estimaram que a contribuição da FBN para a cultura foi cerca de 40% do N total na cana-planta e, na cana-soca variou de 38 a 77%, aos 12 meses após o plantio. No entanto, em ambos experimentos as variedades utilizadas atualmente não apresentam importância para a agricultura canavieira do estado de Pernambuco, não sendo nem citadas no censo varietal das 20 mais plantadas em 2012 (CHAPOLA et al., 2012).

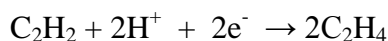
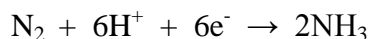
Boddey et al. (2003) avaliaram a FBN em quatro estados do Brasil: São Paulo; Minas Gerais; Rio de Janeiro; e Pernambuco. Para isso, utilizaram-se cinco variedades de cana em 11 diferentes cultivos e cerca de 15 espécies de plantas espontâneas como plantas de referência. Os autores chegaram à conclusão que a contribuição da FBN para as variedades de cana foi positiva e representou uma importante fonte de N para plantas.

Técnicas que avaliam a FBN

Redução de acetileno

A capacidade de FBN de microrganismos isolados ou associados a plantas durante muito tempo foi avaliada com o uso da técnica conhecida como redução de acetileno. Essa técnica parte do princípio que quando a nitrogenase se encontra na presença de acetileno (C₂H₂), o reduz a etileno (C₂H₄). Sendo assim, a taxa na qual acontece a redução do acetileno é indicada como atividade da nitrogenase (AN), podendo ser determinada em bactérias no solo, raízes, caules, folhas, e até mesmo em bactérias isoladas em placas de Petri (HARDY et al., 1968).

Em pesquisas iniciais sobre a FBN, a AN foi utilizada para estimar a contribuição do N₂ na nutrição do vegetal. De maneira geral, na redução do N₂ são requeridos seis elétrons, enquanto que para a redução do C₂H₂ são necessários dois, sendo assim a cada três moles de C₂H₂ reduzidos a C₂H₄ pela nitrogenase, um mol de N₂ seria reduzido a NH₃, conforme as equações descritas abaixo. No entanto, o valor dessa relação pode variar com a espécie e as condições de desenvolvimento do vegetal, como a 3:2 e 4:1 (DOMMERGUES et al., 1973; HARDY et al., 1973; SILVESTER & BENNETT, 1973).



Utilizando o valor da relação C₂H₂:N₂ de 3:1 em experimento conduzido em casa-de-vegetação com genótipos de milho, Barber et al. (1976) observaram que a AN em raízes foi de 47 nmol h⁻¹ g⁻¹, o que correspondeu a 16 g ha⁻¹ dia⁻¹ de N. Para isso, a taxa de C₂H₂ reduzido é considerada constante durante todo o dia. Yoshida & Ancajas (1973) relataram que a FBN em arroz inundado contribuiu com 52 e 63 kg ha⁻¹ de N, respectivamente na estação chuvosa e seca.

Avaliando a AN em raízes de coníferas na Nova Zelândia, Silvester & Bennett (1973) observaram que a relação C₂H₂:N₂ mais coerente foi de 3:2. Neste caso, a redução de três nmoles de C₂H₂ correspondeu a dois nmoles g⁻¹ h⁻¹ de NH₃ ou 28 ng g⁻¹ h⁻¹ de N.

Essa técnica foi bastante utilizada em pesquisas sobre a FBN devido a sua alta sensibilidade, podendo detectar a redução do C₂H₂ a C₂H₄ com duas a três células de *Azotobacter* spp.; pelo tempo utilizado no processo de redução, dependendo da espécie vegetal, cinco minutos são suficientes para produzir uma concentração de C₂H₄

detectável; por utilizar materiais e aparelhos de acesso relativamente fácil; e pela rapidez na determinação, de um a dois minutos (BODDEY et al., 2007).

Entretanto, devido a subjetividade da estimativa da contribuição do N₂ para o suprimento das culturas pela AN, esta análise tem sido pouco explorada nos estudos de FBN (JAMES, 2000). Contudo, pode ser considerada uma ferramenta importante em estudos que visam a indicação da ocorrência ou não do processo de fixação, ou mesmo da sua potencialização.

Nesse contexto, as técnicas que se baseiam na proporção dos isótopos de N (¹⁴N e ¹⁵N) são mais recomendadas para estimar a contribuição da FBN na nutrição das culturas.

Técnicas com o isótopo ¹⁵N

Existem dois isótopos estáveis de N, o ¹⁴N e o ¹⁵N, sendo a concentração do primeiro predominante no planeta. O isótopo ¹⁵N ocorre na atmosfera a uma concentração constante de 0,3663%, valor significativamente menor que os teores encontrados na maioria dos solos, sendo essa diferença utilizada para a estimativa da FBN (CHALK, 1985; PEOPLES et al., 2002; HERRIDGE et al., 2008).

Em teoria, uma planta fixadora apresenta menor proporção de ¹⁵N:¹⁴N em relação a uma planta não fixadora. Isso, porque plantas que não fixam N têm a exigência do nutriente satisfeita pelo o NO₃⁻ e o NH₄⁺ do solo, que apresenta maior proporção de ¹⁵N:¹⁴N em relação a atmosfera (CHALK, 1985; PEOPLES et al., 2002; HERRIDGE et al., 2008).

Para estimar a FBN usando o conhecimento dos isótopos estáveis de N, pode-se utilizar duas técnicas. Quando as fontes de ¹⁴N e ¹⁵N são o solo e a atmosfera a técnica é denominada de abundância natural. A outra é a diluição isotópica, quando se faz uso de fertilizantes enriquecidos com ¹⁵N, que apresenta como desvantagem o alto custo. Para determinação da proporção do N absorvido pelas plantas que tem a atmosfera como origem, em experimentação de campo, a técnica da abundância natural de ¹⁵N é a mais indicada (HERRIDGE et al., 2008).

Técnica da abundância natural de ¹⁵N

Nesta técnica, além do vegetal em que se deseja conhecer a fixação, cultivam-se plantas que não possuem associação com bactérias fixadoras de N como referência. Sendo assim, a abundância de ¹⁵N no vegetal avaliado, que obtêm o N do solo e possivelmente da atmosfera, é comparada com uma planta não fixadora, que tem o solo

como fonte de N, podendo ser calculada pela seguinte equação (SHEARER & KOHL, 1986):

$$\%N_{dfa} = 100 \cdot \frac{(\delta^{15}N_{ref} - \delta^{15}N_{fix})}{\delta^{15}N_{ref-B}}$$

Onde:

$\%N_{dfa}$ = porcentagem de N proveniente da FBN no vegetal em estudo;

$\delta^{15}N_{ref}$ = abundância natural de ^{15}N na planta de referência;

$\delta^{15}N_{fix}$ = abundância natural de ^{15}N no vegetal em estudo;

B = $\delta^{15}N$ da planta fixadora quando totalmente dependente do N_2 .

e:

$$\delta^{15}N (\text{‰}) = \frac{1000 \cdot \left[\left(\frac{^{15}N}{^{14}N} \right)_a - \left(\frac{^{15}N}{^{14}N} \right)_{N_2 atm} \right]}{\left(\frac{^{15}N}{^{14}N} \right)_{N_2 atm}}$$

Onde:

a = na amostra.

atm = na atmosfera.

O uso da técnica da abundância natural de ^{15}N apresenta ponderações que podem levar pesquisadores a conclusões equivocadas. Entre os problemas relacionados com essa técnica estão as diferenças entre a planta na qual se deseja conhecer o potencial de FBN e a planta utilizada como referência, pois, normalmente, possuem ciclos distintos, apresentam sistemas radiculares diferentes, explorando profundidades diferentes do solo e podem apresentar diferença temporal na absorção de N; e ao solo, uma vez que em solos muito intemperizados, o teor de ^{15}N pode ser tão baixo quanto na atmosfera, não sendo possível a estimação da FBN por este método (HOGBERG, 1997; BAPTISTA et al., 2014). Considerando todas estas ponderações, a técnica de diluição isotópica pode ser mais precisa e até mesmo mais exata que a técnica da abundância natural.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do Mo na atividade das enzimas redutase do nitrato e nitrogenase, na fixação biológica e no acúmulo de N, de Mo e de biomassa em diferentes variedades de cana-de-açúcar no ciclo de cana planta em diferentes estádios de crescimento, bem como quantificar estes efeitos na produtividade de colmos e nas variáveis tecnológicas da cultura.

Referências bibliográficas

- ADUAN, R. E.; VILELA, M. D. F.; REIS JÚNIOR, F. B. DOS R. **Os Grandes Ciclos Biogeoquímicos do Planeta. Documentos/Embrapa Cerrados**. Planaltina, DF, 2004.
- ALVAREZ, R.; WUTKE, A.C.P. Adubação da cana-deaçúcar. XV - experimentos com micronutrientes nas regiões canavieiras do estado de São Paulo. **Bragantia**, v.38, p.647-650, 1963.
- ARMAS, R. DE et al. Influence of Ammonium and Nitrate on the Growth and Photosynthesis of Sugarcane. **Journal of Plant Physiology**, v. 140, p. 531–535, 1992.
- ASSIS, C. A. et al. Estimation of the nitrogen fixation by sugarcane cultivar NiF-8 using N dilution and natural abundance techniques. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 48, n. 2, p. 283–285, 2002.
- AZEREDO, D. F.; BOLSANELLO, J.; WEBWE, H.; VIEIRA, J. R. Nitrogênio em cana-planta doses e fracionamento. **STAB, Açúcar, álcool e subprodutos**, Piracicaba, v. 4, n. 5, p. 25-29, 1986.
- BAPTISTA, R. B. et al. Variations in the ^{15}N natural abundance of plant-available N with soil depth: Their influence on estimates of contributions of biological N_2 fixation to sugar cane. **Applied Soil Ecology**, v. 73, p. 124–129, jan. 2014.
- BARBER, L. E. et al. Acetylene Reduction (Nitrogen Fixation) Associated with Corn Inoculated with *Spirillum*. **Applied Environmental of Microbiology**, v. 32, n. 1, p. 108–113, 1976.
- BARBOSA, G. V. S. et al. **Três novas variedades RB de cana-de-açúcar**: BOletim técnico PMGCA. Rio Largo: [s.n.].
- BARBOSA, M. H. P. et al. RB867515 Sugarcane cultivar. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 1, n. 4, p. 437–438, 2001.
- BODDEY, L. H. et al. **A Avaliação da Fixação Biológica de N_2 Associada a Leguminosas e Não-Leguminosas Utilizando a Técnica da Redução do Acetileno: História, Teoria e Prática** Seropédica - RJEmbrapa Agrobiologia, , 2007.
- BODDEY, R. M. et al. Endophytic nitrogen fixation in sugarcane: present knowledge and future applications. **Plant and Soil**, v. 252, n. 1, p. 139–149, maio 2003.
- BOLOGNA-CAMPBELL, I. **Balanço de nitrogênio e enxofre no sistema solo-cana-de-açúcar no ciclo de cana-planta**. [s.l.] Universidade de São Paulo - Piracicaba, 2007.
- BOUWMAN, A. F.; DRECHT, G. VAN; HOEK, K. W. VAN DER. Surface N balances and reactive N loss to the environment from global intensive agricultural

production systems for the period 1970 — 2030. **Science in China Series C Life Sciences**, v. 48, p. 1–13, 2005.

BRENNAN, R. F.; BOLLAND, M. D. A. Increased Concentration of Molybdenum in Sown Wheat Seed Decreases Grain Yield Responses to Applied Molybdenum Fertilizer in Naturally Acidic Sandplain Soils. **Journal of Plant Nutrition**, v. 30, n. 12, p. 2005–2019, 3 dez. 2007.

CAMPBELL, W. H. NITRATE REDUCTASE STRUCTURE, FUNCTION AND REGULATION: Bridging the Gap between Biochemistry and Physiology. **Annual review of plant physiology and plant molecular biology**, v. 50, p. 277–303, jun. 1999.

CARVALHO, P. G. DE et al. Aspectos do crescimento e atividade da redutase do nitrato em plantas de *Vernonia herbacea* (Vell .) Rusby submetidas a diferentes fontes de nitrogênio. **Hoehnea**, v. 33, n. 1, p. 89–97, 2006.

CHALK, M. Estimation of N₂ fixation by isotope dilution: an appraisal of techniques involving ¹⁵N enrichment and their application. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 17, n. 4, p. 389–410, 1985.

CHAPOLA ET AL., R. G. **Censo varietal 2012**. Araras: CCA-UFSCar, 2012. p. 55

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira - Cana-de-açúcar SAFRA 2013/14. **Conab**, v. 1, n. Abril, p. 1–14, 2014.

DANIELS, J; ROACH, B.T. Taxonomy and evolution in sugarcane. Sugarcane improvement through breeding – Heinz DJ, ed. (1987) Amsterdam: Elsevier Press. 7-84.

DOMMARGUES, Y. et al. Non-symbiotic nitrogen fixation in the rhizo-spheres of rice, maize and different tropical grasses. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 5, n. Table 1, p. 83–89, 1973.

DONATO, V. M. T. S. et al. Atividade enzimática em variedades de cana-de-açúcar cultivadas in vitro sob diferentes níveis de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 11, p. 1087–1093, nov. 2004.

FERNANDES, M. F. et al. Toxicidade de inseticidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar para a bactéria diazotrófica *Herbaspirillum seropedicae*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 55, n. 4, p. 318–326, 2012.

FIGUEIREDO, M.V.B.; LIRA JÚNIOR, M. A.; ARAÚJO, A. S. I.; MARTINEZ, C. R. Fatores bióticos e abióticos à fixação biológica de N₂. **In**: Figueiredo, M.V.B.; Burity, H. A.; Stamford, N. P.; Santos, C. E. R. Agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura. Agrolivros, 2008, 568p.

- FITRI, N. et al. Molybdenum Speciation in Raw Phloem Sap of Castor Bean. **Analytical Letters**, v. 41, n. 10, p. 1773–1784, 16 jul. 2008.
- FRANCO, H. C. J. et al. Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer under Brazilian field conditions. **Field Crops Research**, v. 121, n. 1, p. 29–41, fev. 2011.
- GAVA, G. J. C. et al. RECUPERAÇÃO DO NITROGÊNIO (^{15}N) DA URÉIA E DA PALHADA POR SOQUEIRA DE CANA-DE-AÇÚCAR (*Saccharum* spp.). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 621–630, 2003.
- GUHA, A. K.; PHUKAN, A. K. Why vanadium complexes perform poorly in comparison to related molybdenum complexes in the catalytic reduction of dinitrogen to ammonia (Schrock cycle): a theoretical study. **Inorganic chemistry**, v. 50, n. 18, p. 8826–33, 19 set. 2011.
- HARDY, R.; BURNS, R.; HOLSTEN, R. Applications of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 5, p. 47–81, 1973.
- HARDY, R. W. et al. The acetylene-ethylene assay for $\text{n}(2)$ fixation: laboratory and field evaluation. **Plant physiology**, v. 43, n. 8, p. 1185–207, ago. 1968.
- HEMAPRABHA, G. et al. Evaluation of Drought Tolerance Potential of Elite Genotypes and Progenies of Sugarcane (*Saccharum* sp . hybrids). **Sugar Tech**, v. 15, n. 1, p. 9–16, 2013.
- HERNANDEZ, J. A et al. Metal trafficking for nitrogen fixation: NifQ donates molybdenum to NifEN/NifH for the biosynthesis of the nitrogenase FeMo-cofactor. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 33, p. 11679–84, 19 ago. 2008.
- HERRIDGE, D. F.; PEOPLES, M. B.; BODDEY, R. M. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. **Plant and Soil**, v. 311, n. 1-2, p. 1–18, 11 jul. 2008.
- HOGBERG, P. ^{15}N natural abundance in soil-plant systems. **New Phytologist**, v. 137, p. 179–203, 1997.
- HU, Y.; LEE, C. C.; RIBBE, M. W. Extending the carbon chain: hydrocarbon formation catalyzed by vanadium/molybdenum nitrogenases. **Science (New York, N.Y.)**, v. 333, n. 6043, p. 753–5, 5 ago. 2011.
- JADOSKI, C. J. et al. Fisiologia do desenvolvimento do estágio vegetativo da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.). **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v. 3, n. 2, p. 169–176, 2010.

- JAMES, E. K. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. **Field Crops Research**, v. 65, n. December 1999, p. 197–209, 2000.
- JONGRUAYSUP, S.; DELL, B.; BELL, R. W. Distribution and Redistribution of Molybdenum in Black Gram (*Vigna mungo* L. Hepper) in Relation to Molybdenum Supply. **Annals of Botany**, v. 73, p. 161–167, 1994.
- KAISER, B. N. et al. The Role of Molybdenum in Agricultural Plant Production. **Annals of Botany**, v. 96, p. 745–754, 2005.
- LIMA NETO, J. F. et al. Avaliação agroindustrial e parâmetros genéticos de clones UFRPE de cana-de-açúcar no litoral norte de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 18, n. 1, p. 8–13, 2013.
- LI-PING, W.; YANG-RUI, L.; LI-TAO, Y. Effects of Molybdenum on Nitrogen Metabolism of Sugarcane. **Sugar Tech**, v. 9, n. 1, p. 36–42, 2007a.
- LI-PING, W.; YANG-RUI, L.; LI-TAO, Y. Effects of molybdenum on nitrogenase activity of nitrogen-fixing bacteria in sugarcane.pdf. **Plant Nutrition and Fertilizer Science**, v. 13, n. 1, p. 110–122, 2007b.
- LÓPEZ, R. S. et al. Molybdenum Availability in Andisols and Its Effect on Biological Parameters of Soil and Red Clover (*Trifolium Pratense* L.). **Soil Science**, v. 172, n. 11, p. 913–924, nov. 2007.
- OLIVEIRA, A. C. DE. **Interação da adubação nitrogenada e molíbdica em cana-de-açúcar**. [s.l.] Universidade Federal Rural de Pernambuco - Recife, 2012.
- OLIVEIRA, E. C. A. DE et al. Extração e exportação de nutrientes por variedades de cana-de-açúcar cultivadas sob irrigação plena. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 4, p. 1343–1352, 2010.
- OLIVEIRA, E. C. A. DE et al. Acúmulo e alocação de nutrientes em cana-de-açúcar. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 3, p. 579–588, 2011a.
- OLIVEIRA, Z. M. DE et al. Diazotrophic rhizobacteria isolated from sugarcane can release amino acids in a synthetic culture medium. **Biology and Fertility of Soils**, v. 47, n. 8, p. 957–962, 2011b.
- PEOPLES, M. B.; BODDEY, R. M.; HERRIDGE, D. F. Quantification of Nitrogen Fixation. In: LEIGH, G. J. (Ed.). **Nitrogen Fixation at the Millennium**. [s.l.] Elsevier Science B.V., 2002. p. 357–389.
- ROBINSON, N. et al. Nitrate paradigm does not hold up for sugarcane. **PloS one**, v. 6, n. 4, p. e19045, jan. 2011.
- ROSA, G. R. (coord.) Anuário brasileiro da cana-de-açúcar 2005. 1ª. ed. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2005. 136p.

- SHEARER, G.; KOHL, D. H. N₂-Fixation in Field Settings: Estimations Based on Natural ¹⁵N Abundance. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 13, p. 699–756, 1986.
- SILVESTER, W. B.; BENNETT, K. J. Acetylene reduction by roots and associated soil of New Zealand conifers. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 5, n. 1, p. 171–179, jan. 1973.
- SMITH, B. E. Structure. Nitrogenase reveals its inner secrets. **Science (New York, N.Y.)**, v. 297, n. 5587, p. 1654–5, 6 set. 2002.
- TRIVELIN, P. C. O.; VICTORIA, R. L.; RODRIGUES, J. C. S. pab95_02_dez.pdf. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 12, p. 1375–1385, 1995.
- UMESH, U. N. et al. Integrated Effect of Organic and Inorganic Fertilizers on Yield, Quality Parameter and Nutrient Availability of Sugarcane in Calcareous Soil. **Sugar Tech**, v. 15, n. 4, p. 365–369, 23 abr. 2013.
- URQUIAGA, S. et al. Avaliação da eficiência do processo de fixação biológica de nitrogênio em diferentes variedades de cana-de-açúcar. **Agronomia**, v. 37, n. 1, p. 55–58, 2003.
- VAUGHN, K. C.; CAMPBELL, W. H. Immunogold localization of nitrate reductase in maize leaves. **Plant physiology**, v. 88, n. 4, p. 1354–7, dez. 1988.
- VISTOSO G, E. M. V. et al. KINETICS OF MOLYBDATE AND PHOSPHATE SORPTION BY SOME CHILEAN ANDISOLS. **Journal Soil Science Plant and Plant Nutritional**, v. 9, n. 1, p. 55–68, 2009.
- VITTI, A. C. et al. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada ao nitrogênio residual da adubação e do sistema radicular. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 2, p. 249–256, 2007.
- WANG, T.-H. et al. Enzyme kinetics, inhibitors, mutagenesis and electron paramagnetic resonance analysis of dual-affinity nitrate reductase in unicellular N(2)-fixing cyanobacterium *Cyanothece* sp. PCC 8801. **Plant physiology and biochemistry : PPB / Société française de physiologie végétale**, v. 49, n. 11, p. 1369–76, nov. 2011.
- WEARE, W. W. et al. Catalytic reduction of dinitrogen to ammonia at a single molybdenum center. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 46, p. 17099–106, 14 nov. 2006.
- WENG, B.-Q. et al. Effects of Molybdenum Application on Plant Growth, Molybdoenzyme Activity and Mesophyll Cell Ultrastructure of Round Leaf Cassia in Red Soil. **Journal of Plant Nutrition**, v. 32, n. 11, p. 1941–1955, 9 out. 2009.

YOSHIDA, T.; ANCAJAS, R. R. The fixation of atmospheric nitrogen in the rice rhizosphere. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 5, n. 1, p. 153–155, jan. 1973.

YOSHIZAWA, J. M. et al. Insertion of heterometals into the NifEN-associated iron-molybdenum cofactor precursor. **Journal of biological inorganic chemistry : JBIC : a publication of the Society of Biological Inorganic Chemistry**, v. 15, n. 3, p. 421–8, mar. 2010.

Capítulo I

**Molibdênio como potencializador da atividade da redutase do nitrato
em cana-de-açúcar**

Molybdenum as enhancer of nitrate reductase activity in sugar cane

Resumo

O Mo é um nutriente essencial para atividade da redutase do nitrato (ARN) por sua ação como regulador enzimático, ou seja, ele pode, de acordo com sua concentração nos tecidos das plantas, elevar ou reduzir a atividade da enzima. Em cana-de-açúcar pesquisas já realizadas indicaram respostas na produtividade de colmos com a aplicação de Mo, porém poucos estudos têm sido desenvolvidos para avaliar o efeito da aplicação de Mo na ARN. Assim, este trabalho objetivou avaliar o efeito da adubação molíbdica na ARN e nos teores de Mo e de N (NO_3^- e NH_4^+) na folha +1 e nas raízes de diferentes variedades de cana-de-açúcar, adubadas com N, em diferentes estádios de crescimento. Para isso, em condições de campo, foram cultivadas duas variedades de cana-de-açúcar (RB867515 e RB92579) submetidas a duas doses de N (0 e 60 kg ha⁻¹) e duas doses de Mo (0 e 200 g ha⁻¹), compondo um arranjo fatorial (2 x 2 x 2). Aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP) foram avaliados os teores de Mo e a ARN na folha +1 e nas raízes das plantas. Aos 70, 100, 130 e 200 DAP determinaram-se os teores de nitrato e de amônio na folha +1 e nas raízes das plantas. A aplicação de Mo elevou o teor de Mo na folha +1 e raízes da cana-de-açúcar e potencializou a ARN. A máxima ARN ocorreu por cerca de 100 DAP da cana-de-açúcar, sugerindo-se que para estudos nutricionais de N, essa seja a melhor época de avaliação. A ARN nas raízes ocorreu cerca de 10 dias mais tarde do que na folha +1. A ARN na RB92579 foi maior que na RB867515, indicando que esta variedade possui maior preferência de absorção de N na forma nítrica. A aplicação de Mo reduziu os teores de nitrato na parte aérea e raízes da RB92579 e aumentou na RB867515, sugerindo que as rotas metabólicas de assimilação de N das variedades são antagônicas.

Palavras-chave: *Saccharum* spp., adubação molíbdica, nutrição nitrogenada, assimilação de N, absorção de N.

Abstract

The Mo is an essential nutrient for the nitrate reductase activity (NRA) by acting as an enzyme regulator. That is, depending on its concentration in plant tissues, the Mo can increase or decrease the activity of the enzyme. Previous sugar cane studies have indicated a productivity increase after the application of Mo, but few studies have been developed to evaluate the effect of Mo application on the NRA. The aim of this study was to evaluate the effect of the Mo applied on the NRA, and the concentrations of both Mo and N (NO_3^- and NH_4^+) on leaf +1 and roots of different sugar cane varieties that were N fertilized at different stages of crop growth. To this aim and under field conditions, two varieties of sugar cane (RB867515 and RB92579) were grown and submitted to two N levels (0 and 60 kg ha⁻¹) and two Mo levels (0 and 200 g ha⁻¹). The concentrations of Mo and the NRA in the leaf +1 and roots were evaluated at 70, 100, 130, 200 and 365 days after planting (DAP). At the 70, 100, 130 and 200 DAP the ammonium and nitrate concentration in leaf +1 and roots were determined. The Mo application increased the Mo content in both the leaf +1 and roots and enhanced the NRA. The maximum NRA occurred about 100 DAP the sugar cane plants, suggesting that for N nutritional studies this is the best time of evaluation. The NRA in roots occurs about 10 days after that for the leaf +1. The NRA in RB92579 was higher than in RB867515, indicating that this sugar cane variety has higher absorption preference for N in nitrate form. The Mo application reduced nitrate contents in the aboveground biomass and roots of RB92579 but increased in RB867515, suggesting that metabolic routes of N assimilation in sugar cane varieties are antagonistic.

Key words: *Saccharum* spp., Mo fertilization, nitrogen nutrition, N assimilation, N uptake

Introdução

O Brasil é um tradicional produtor de cana-de-açúcar, sendo responsável por 33% da produção mundial (JADOSKI et al., 2010). Desta forma, estudos sobre relações nutricionais da cultura são de suma importância para aumentar sua produtividade. O N é nutriente mineral muito requerido pela cana-de-açúcar, havendo relatos que sua absorção pode variar de 150 a 325 kg ha⁻¹ em diversas variedades comerciais no ciclo de cana-planta (OLIVEIRA et al., 2010; BAPTISTA et al., 2014). Isso porque o N faz parte da estrutura de vários compostos nas plantas, como aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, entre outros, além de atuar também como ativador de muitas enzimas, e desta forma, participar de suas principais reações bioquímicas (HIREL et al., 2011).

O elevado requerimento de N pela cultura da cana-de-açúcar, a baixa contribuição de adubos minerais em sua nutrição e as significativas perdas no sistema solo-planta-atmosfera fazem com que as doses recomendadas de fertilizantes nitrogenados sejam altas (BOUWMAN et al., 2005; FRANCO et al., 2011). Em média, são aplicados no cultivo de cana-de-açúcar de 60 a 100, 150 a 400 e cerca de 160 kg ha⁻¹ de N, respectivamente, no Brasil, Índia e Austrália (HERRIDGE et al., 2008; FRANCO et al., 2011; HIREL et al., 2011). Neste contexto, são necessárias pesquisas que avaliem meios de aumentar a eficiência da adubação nitrogenada, como por exemplo, uma maior absorção e assimilação de N pela cana-de-açúcar (POLIDORO, 2001; OLIVEIRA, 2012).

A cana absorve o N do solo preferencialmente nas formas amoniacal (N-NH₄⁺) e nítrica (N-NO₃⁻), entretanto, em solos aerados a forma nítrica é predominante (ARMAS et al., 1992; ROBINSON et al., 2011). Quando o N-NO₃⁻ é absorvido precisa ser reduzido a N-NH₄⁺ nos plastídeos da raiz ou nos cloroplastos foliares, para ser assimilado e utilizado na formação de aminoácidos e proteínas, sendo a enzima redutase do nitrato fundamental neste processo, por ser responsável pela conversão de N-NO₃⁻ a N-NO₂⁻ (HIREL et al., 2011). Desta forma, se houver baixa atividade da redutase do nitrato (ARN), a assimilação do N será reduzida.

O Mo é um nutriente essencial para ARN por sua ação como regulador enzimático, ou seja, ele pode, de acordo com sua concentração nos tecidos das plantas, elevar ou reduzir a atividade da enzima, estando a ARN em proporção direta com a concentração de Mo (LI-PING et al., 2007). Quando uma planta está deficiente em Mo, o metabolismo do N é alterado, principalmente quando a forma de N predominante no solo é a nítrica, havendo redução da assimilação de N, com conseqüente redução do crescimento e da produtividade (KAISER et al., 2005).

Particularmente em cana-de-açúcar pesquisas antigas, como as realizadas por Alvarez & Wutke (1963) indicaram respostas a aplicação de Mo, proporcionando acréscimos na produtividade de colmos da ordem de 19 Mg ha⁻¹. Recentemente, Oliveira (2012) avaliando o efeito da interação da adubação nitrogenada e molíbdica sobre a produtividade da cana-de-açúcar, observou incrementos positivos na produtividade de colmos. Segundo o autor a produção obtida com a aplicação de 120 kg ha⁻¹ de N foi a mesma da combinação de 60 kg ha⁻¹ de N e 200 g ha⁻¹ de Mo. Adicionalmente, quando não se adubou com N foram observados incrementos de até 9 Mg ha⁻¹ de colmo, com a maior dose de Mo, que foi de 1.600 g ha⁻¹.

Por outro lado, poucas pesquisas têm sido desenvolvidas para avaliar a resposta da ARN a aplicação de Mo. Dentre elas pode-se destacar as de Li-Ping et al. (2007), que estudaram o efeito do Mo na ARN em cana-de-açúcar em sistema hidropônico. Os autores utilizaram quatro doses de Mo na solução nutritiva e observaram que a ARN na folha +1 foi elevada pelo aumento da concentração de Mo, no entanto, os incrementos não foram proporcionais e nem constantes.

Brennan & Bolland (2007) observaram que a produtividade de trigo foi elevada com aplicação de Mo em solos ácidos na Austrália. Entretanto, o incremento na produtividade de grãos nestes solos só foi obtido com o aumento de 100% da dose recomendada do micronutriente.

Assim, para gerar informações sobre a capacidade do Mo de potencializar a ARN, este trabalho objetivou avaliar o efeito da adubação molíbdica na ARN e nos teores de Mo e de N (NO₃⁻ e NH₄⁺) na folha +1 e nas raízes de diferentes variedades de cana-de-açúcar, adubadas com N, em diferentes estádios de crescimento.

Material e Métodos

Conduziu-se um experimento em campo na Estação Experimental de Cana-de-açúcar de Carpina (EECAC), no município de Carpina – PE, com coordenadas geográficas 7°51'04'' S e 35°14'27'' W, em um ARGISSOLO VERMELHO AMARELO distrocoeso, de março de 2013 a março de 2014. O município tem altitude de 184 m, com clima predominante As', tropical chuvoso com verão seco, de acordo com o sistema Köppen e temperatura média anual de 24,2 °C (BELTÃO et al., 2005). A precipitação pluvial ocorrida durante o experimento foi de 1.359 mm (Figura 1). Adicionalmente, nos dois primeiros meses após o plantio, foi realizada a aplicação de três lâminas de 25 mm de água.

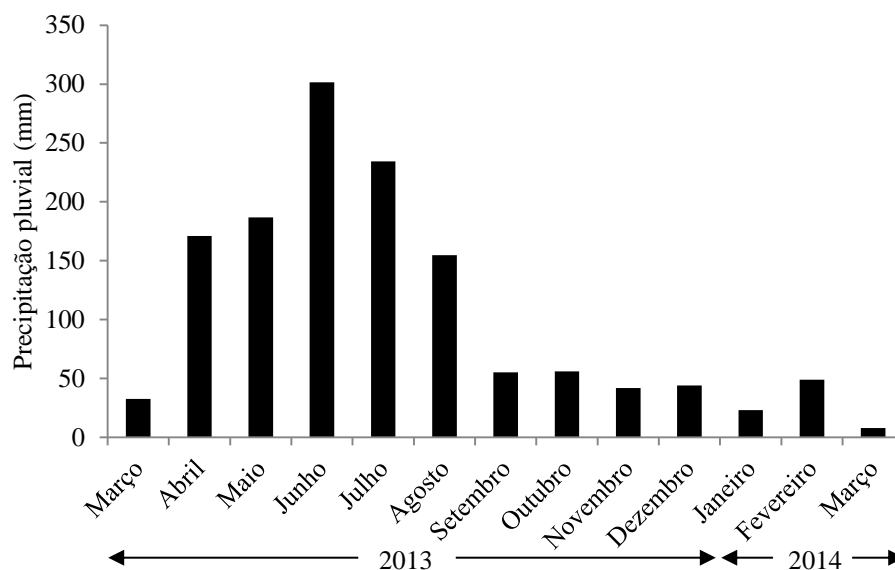


Figura 1. Precipitação pluviométrica durante o ensaio na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, em Carpina – PE.

A caracterização química e física do solo foi realizada em duas profundidades, 0,0 a 0,2 e 0,2 a 0,4 m (Tabela 1), em amostras compostas oriundas da coleta de 15 amostras simples coletadas aleatoriamente. Para caracterização química se determinou o pH (H₂O), Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺, Al³⁺, (H+Al), P, P-rem (P remanescente), Fe, Cu, Zn, Mn, Mo, NH₄⁺, NO₃⁻, δ¹⁵N (abundância natural de ¹⁵N) e COT (carbono orgânico total). O Ca²⁺, Mg²⁺ e Al³⁺ foram extraídos com KCl 1,0 mol L⁻¹ e dosados por titulometria. O P, K⁺, Na⁺, Fe, Cu, Zn, Mn, e Mo foram extraídos com Mehlich-1, sendo o P e o Mo dosados por espectrofotometria, o K⁺ e Na⁺ por fotometria de chama e o Fe, Cu, Zn e Mn por espectrofotometria de absorção atômica. A acidez potencial (H+Al) foi extraída com acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹ e dosada por titulometria. O COT foi determinado por combustão úmida com dicromato de potássio e dosado por titulometria. Todas as análises foram realizadas conforme metodologias descritas pela EMBRAPA (2009).

Com os resultados destas análises químicas, calculou-se a saturação por bases (V), a saturação por Al (m), a capacidade de troca de cátions efetiva (CTC_{efetiva}) e a capacidade de troca de cátions potencial (CTC_{potencial}).

O P-rem foi determinado por espectrofotometria, em extrato obtido após a amostra de solo ficar em equilíbrio com solução de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ contendo 60 mg L⁻¹ de P, de acordo com Alvarez V. et al. (2000). O NH₄⁺ e o NO₃⁻ foram extraídos com KCl 1,0 mol L⁻¹ e dosados por destilação por arraste de vapores pelo método de Kjeldahl, conforme Tedesco et al. (1995). O ¹⁵N foi determinado por espectrometria de

massa, sendo posteriormente calculado o $\delta^{15}\text{N}$, conforme metodologia descrita por Shearer & Kohl (1986).

Fisicamente o solo foi caracterizado pela granulometria, definindo sua classe textural; densidade do solo; densidade das partículas; umidades na capacidade de campo (Θ_{CC}) e no ponto de murcha permanente (Θ_{PMP}); condutividade hidráulica do solo saturado (K_0); e indiretamente, a porosidade total. Todas as análises físicas foram realizadas de acordo com a metodologia proposta pela EMBRAPA (1997).

Foram utilizadas as variedades de cana-de-açúcar RB92579 e RB867515, por serem muito cultivadas no Nordeste e no Brasil, respectivamente (CHAPOLA et al., 2012). O cultivo da cana foi submetido a duas doses de N (0 e 60 kg ha⁻¹) e duas doses de Mo (0 e 200 g ha⁻¹), baseadas no estudo da interação da adubação nitrogenada e molíbdica em cana-de-açúcar desenvolvido por Oliveira (2012), sendo utilizados como fonte de N a ureia e como fonte de Mo o molibdato de sódio. Os fertilizantes foram aplicados em fundação, durante o plantio da cana-de-açúcar. O molibdato de sódio foi diluído em água e aplicado com o auxílio de pulverizador costal.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, em arranjo fatorial de tratamentos (2 x 2 x 2), em medidas repetidas no tempo, com quatro repetições, totalizando 32 unidades experimentais. Cada parcela foi composta por sete sulcos de 10 m de comprimento, espaçados por um metro, totalizando 70 m². A área útil foi formada pelos cinco sulcos centrais, descartando-se um metro das extremidades, totalizando 40 m². Os dois sulcos localizados nas extremidades da área útil foram utilizados para realização das amostragens destrutivas e os três sulcos centrais para as amostragens não destrutivas.

O experimento foi instalado 40 dias após a aplicação à lanço de 2,2 Mg ha⁻¹ de calcário dolomítico (PRNT de 100%) em área total e incorporado até 0,2 m de profundidade. A necessidade de calagem foi calculada pelo método da saturação por bases (RIBEIRO et al., 1999), estimando uma elevação da saturação para 60%. A adubação foi realizada em fundação com a aplicação de P e K em todas as parcelas. A adubação fosfatada foi realizada considerando o teor de P disponível e a textura do solo de acordo com Simões Neto et al. (2011), sendo aplicados 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅ como superfosfato triplo (40% de P₂O₅). Para o K, a recomendação foi feita com base na expectativa de produção, estimando-se produtividades acima de 100 t ha⁻¹, para tal foi utilizado um valor médio de eficiência de K₂O de 1,4 kg t⁻¹ de cana (OLIVEIRA et al., 2010), sendo aplicados 140 kg ha⁻¹ de K₂O, como cloreto de potássio (60% de K₂O).

Tabela 1. Atributos químicos e físicos do solo em diferentes profundidades na área do ensaio de campo na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, em Carpina – PE

Atributo	Profundidade (m)	
	0,0 – 0,2	0,2 – 0,4
pH água (1:2,5)	5,2	4,8
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	2,10	1,80
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,50	0,60
K ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,15	0,06
Na ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,04	0,07
Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,50	0,70
(H + Al) (cmol _c dm ⁻³)	5,50	7,50
P (mg dm ⁻³)	19,00	4,00
Fe (mg dm ⁻³)	55,40	41,20
Cu (mg dm ⁻³)	0,10	0,30
Zn (mg dm ⁻³)	2,50	2,40
Mn (mg dm ⁻³)	6,60	5,00
Mo (mg dm ⁻³)	0,14	0,15
COT (g kg ⁻¹) ¹	1,19	1,25
P-rem (mg L ⁻¹) ²	39,57	30,02
NO ₃ ⁻ (mg dm ⁻³)	56,14	65,22
NH ₄ ⁺ (mg dm ⁻³)	20,02	20,64
δ ¹⁵ N (‰) ³	4,72	5,09
CTC efetiva (cmol _c dm ⁻³) ⁴	3,29	3,23
CTC potencial (cmol _c dm ⁻³) ⁵	8,29	10,03
V (%) ⁶	33,66	25,22
m (%) ⁷	15,20	21,67
Areia Total (g kg ⁻¹)	723,00	681,00
Areia Grossa (g kg ⁻¹)	509,80	481,20
Areia Fina (g kg ⁻¹)	213,6	199,40
Silte (g kg ⁻¹)	117,00	80,00
Argila (g kg ⁻¹)	160,00	239,00
Classe Textural	Franco-arenosa	Franco-argilo-arenosa
Ds (kg dm ⁻³) ⁸	1,46	1,41
Dp (kg dm ⁻³) ⁹	2,56	2,47
PT (%) ¹⁰	43,21	42,79
Θ _{CC} (Mg Mg ⁻¹) ¹¹	0,12	0,13
Θ _{PMP} (Mg Mg ⁻¹) ¹²	0,06	0,08

¹Carbono orgânico total; ²Fósforo remanescente; ³Abundância natural de ¹⁵N; ⁴Capacidade de troca de cátions efetiva; ⁵Capacidade de troca de cátions potencial; ⁶Saturação por bases; ⁷Saturação por alumínio; ⁸Densidade do solo; ⁹Densidade de partículas; ¹⁰Porosidade total; ¹¹Umidade na capacidade de campo; ¹²Umidade no ponto de murcha permanente.

O plantio das variedades de cana-de-açúcar foi realizado em sulcos de aproximadamente 0,2 m de profundidade, onde foram distribuídos 14 Mg ha⁻¹ de colmos com sete meses de idade, dispostos em corrente dupla, de modo que a ponta de um coincida com a base do outro. Posteriormente, os colmos foram seccionados em toletes, havendo uma densidade de 14 gemas por metro, e se procedeu a aplicação dos fertilizantes e fechamento do sulco.

Aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP) foi realizada a avaliação da ARN e dos teores de Mo e N (NO_3^- e NH_4^+) na folha +1 e nas raízes das variedades de cana-de-açúcar. A ARN foi determinada *in vivo*, segundo metodologia sugerida por Hageman & Reed (1980) e adaptada por Bezerra Neto & Barreto (2011).

Foram amostradas aleatoriamente na parcela útil três folhas +1 e uma porção de raiz de cada variedade estudada. Essas coletas ocorreram sempre no horário entre 9:30 e 12:30 h, sendo reservados 45 minutos para a amostragem de cada bloco. As frações vegetais coletadas foram protegidas com papel alumínio e acondicionadas em caixas térmicas contendo gelo, sendo posteriormente levadas ao laboratório para determinação da ARN. Na ausência de luz foram incubados 0,25 g de discos de tecido foliar (terço médio, excluindo a nervura central) e 0,5 g de raízes, em 5 mL de solução, composta de K_2HPO_4 a 0,1 mol L^{-1} , KNO_3 a 0,1 mol L^{-1} , n-propanol a 1% e espalhante adesivo a 0,01%, durante 1 h a 25 °C, após vácuo de 30 segundos. Após a incubação foram coletadas alíquotas de 1 mL, e em seguida, adicionados 5 mL da solução de sulfanilamida 0,5% em HCl a 0,75 mol L^{-1} e N-etilenodiaminadihidrocloreto (N-naftil) 0,01% e 4 mL de água deionizada. Após 15 minutos de reação foi realizada a determinação de nitrito em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 540 nm. Os resultados foram correlacionados com uma curva padrão de nitrito, nas concentrações de 0, 1, 2, 3, 4 e 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na solução de leitura, determinando-se a ARN em $\mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$.

Para a determinação dos teores de Mo, NO_3^- e NH_4^+ na folha +1 e nas raízes das variedades, foram coletas aleatoriamente mais três folhas +1 e uma porção de raiz por parcela. Para isso os tecidos vegetais coletados foram secos em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C e triturados em moinho de facas. Para avaliação do teor de Mo, se procedeu a digestão dos tecidos em solução nitro-perclórica e determinação em espectrofotômetro, de acordo com a metodologia proposta por EMBRAPA (2009). As formas inorgânicas de N (NO_3^- e NH_4^+) na folha +1 e nas raízes secas foram extraídas com KCl 1 mol L^{-1} e determinadas em destilador de arraste por vapor de Kjeldahl, seguindo procedimento sugerido por Tedesco et al. (1995).

A ARN e os teores de Mo e N (NO_3^- e NH_4^+) na folha +1 e nas raízes foram avaliados considerando-se as variedades de cana e as doses de Mo e de N, como medidas repetidas no tempo. Para isso foi utilizado o pacote estatístico SAS Learning 2.0, seguindo o procedimento para modelo misto, sendo selecionado o teste de covariância [AR(1), Ante (1), ARH (1), ARMA (1), CS, CSH, HF, TOEP, Lin (1), UN] que apresentou o menor valor do critério de Akaike (WOLFINGER & CHANG, 1995).

Nas variáveis em que se observou efeito significativo ($p < 0,05$) foi realizada análise de regressão.

Resultados e discussão

Teor de molibdênio na folha +1 e nas raízes

Os dados dos teores de Mo na folha +1 e nas raízes das variedades de cana, independente da aplicação de N e de Mo não se ajustaram a nenhum modelo de regressão, ao longo do cultivo da cana planta.

De uma maneira geral os teores de Mo nas raízes das variedades de cana-de-açúcar foram superiores aos teores na folha +1 aumentando, em média, de 0,58 para 0,97 mg kg⁻¹ na variedade RB867515 e de 0,59 para 0,86 mg kg⁻¹ na RB92579 (Tabela 2). Há uma concentração de Mo nas raízes e uma diluição do nutriente na parte aérea, influenciada pela maior produção de biomassa de folhas do que de raízes.

Os teores de Mo na folha +1 das variedades não foram diferentes, porém nas raízes o teor de Mo da variedade RB867515 foi maior do que na RB92579 (Tabela 2). Essa maior absorção de Mo pela RB867515, que se refletiu em maior teor nas raízes e que não foi observada na parte aérea, provavelmente foi devido ao seu maior crescimento e produção de biomassa, o que promoveu diluição das quantidades absorvidas. No entanto, isso pode ter causado maior acúmulo de Mo na parte aérea desta variedade. Este maior acúmulo de Mo pode ter sido devido a um maior sistema radicular da variedade, que permitiu uma maior exploração do solo e, conseqüentemente, maior acesso ao Mo disponível; pode ter sido devido a uma maior capacidade metabólica de absorção de nutrientes da variedade, inclusive Mo; pode ter sido devido a uma maior absorção de N na forma nítrica, que induziu a uma maior exigência de Mo para atuar como co-fator enzimático da redutase do nitrato; e pode ter sido devido a uma maior capacidade de fixação de N da variedade, fazendo com que haja uma maior exigência de Mo para atuar como co-fator enzimático da nitrogenase. Evidentemente, pode ser que tenha havido uma combinação de mais de um destes fatores, tornando a variedade RB867515 mais acumuladora de Mo na parte aérea do que a RB92579.

Adicionalmente, os teores de Mo nas raízes das variedades apontaram para uma concentração de Mo na RB867515 e uma diluição na RB92579. Uma hipótese para isto é, que a RB867515 tenha uma menor capacidade de translocação, acumulando Mo nas raízes.

Tabela 2. Teor de molibdênio na folha +1 e nas raízes das variedades de cana-de-açúcar RB867515 e RB92579 na ausência e presença de molibdênio e na ausência e presença de nitrogênio aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP)

Folha +1								
Fator	RB867515				RB92579			
	S/Mo		C/Mo		S/Mo		C/Mo	
	S/N	C/N	S/N	C/N	S/N	C/N	S/N	C/N
DAP	mg kg ⁻¹							
70	0,66	0,60	0,82	0,91	0,74	0,73	0,96	1,06
100	0,37	0,37	0,43	0,40	0,36	0,38	0,44	0,45
130	0,28	0,55	0,64	0,56	0,29	0,29	0,37	0,44
200	0,68	0,82	0,96	0,93	0,77	0,78	0,83	1,06
365	0,40	0,29	0,45	0,43	0,40	0,36	0,56	0,53
\bar{N}	0,48 a	0,53 a	0,66 a	0,65 a	0,51 a	0,51 a	0,63 a	0,71 a
\bar{Mo}	0,50 b		0,65 a		0,51 b		0,67 a	
$\bar{Variedade}$	0,58 a				0,59 a			
Raiz								
Fator	RB867515				RB92579			
	S/Mo		C/Mo		S/Mo		C/Mo	
	S/N	C/N	S/N	C/N	S/N	C/N	S/N	C/N
DAP	mg kg ⁻¹							
70	0,98	1,15	1,30	1,26	0,79	0,76	1,13	1,16
100	0,63	1,08	0,79	1,43	0,73	0,89	0,93	1,05
130	0,99	1,05	1,21	1,00	0,69	0,83	0,49	1,13
200	1,07	0,74	0,92	0,78	0,84	0,80	1,25	0,93
365	0,81	0,63	0,85	0,75	0,48	0,70	0,70	0,90
\bar{N}	0,90 b	0,93 a	1,01 a	1,04 a	0,71 b	0,80 a	0,90 b	1,03 a
\bar{Mo}	0,91 b		1,03 a		0,75 b		0,97 a	
$\bar{Variedade}$	0,97 a				0,86 b			

\bar{N} : média de N; \bar{Mo} : média de Mo; $\bar{Variedade}$: média das variedades; Letras minúsculas iguais na linha não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em média, os teores de Mo foram maiores tanto na folha +1, como nas raízes, quando se aplicou Mo, independente da variedade de cana e da aplicação de N (Tabela 2), demonstrando a efetividade da aplicação de Mo. Brennan & Bolland (2007) cultivaram trigo na ausência e presença da adubação molíbdica em solos ácidos da Austrália. Segundo os autores, quando o trigo recebeu a dose de 160 g ha⁻¹ de Mo, os grãos produzidos apresentaram incremento de 285% no teor de Mo, corroborando os resultados deste trabalho.

Na folha +1, os teores de Mo não foram influenciados pela adição de N, embora independente da aplicação de Mo e da variedade, nas raízes tenha ocorrido acréscimo

nesses teores com a aplicação de N. Esta elevação nos teores de Mo com adição de N foi significativa nas raízes, independente da variedade e da aplicação de Mo (Tabela 2). A adição de N promoveu um maior crescimento do sistema radicular (OTTO et al., 2009), influenciando positivamente na absorção de Mo, independente de sua aplicação. Na parte aérea, apesar da adição de N também ter promovido um incremento nos teores de Mo, a atividade enzimática provavelmente requereu mais Mo, não permitindo que se observasse efeito significativo da aplicação de N nos teores de Mo.

Atividade da Redutase do Nitrato (ARN) na folha +1 e nas raízes

Os dados da ARN na folha +1 e nas raízes das variedades de cana se ajustaram ao modelo de sino, sendo possível a seleção do período do ciclo da cana planta no qual a ARN atingiu seu pico de máxima atividade (Figuras 2 e 3). A influência da aplicação de Mo nas variedades com e sem adição de N foi avaliada, principalmente neste período, porque foi o período de máxima expressão da enzima.

A ARN nos tecidos das variedades de cana se elevou 50 DAP, atingindo a máxima atividade próximo aos 100 DAP, e em seguida iniciou uma fase de declínio, alcançando a estabilização à cerca dos 130 DAP (Figuras 2 e 3).

De uma maneira geral a máxima ARN na folha +1 das variedades de cana-de-açúcar foi superior a das raízes crescendo, em média, de 0,44 para 0,72 $\mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ (Figuras 2 e 3). Essa diferenciação da ARN entre folhas e raízes foi relatada por Kaiser et al. (2005), em videira Chardonnay cultivada em areia e irrigada com solução nutritiva.

Houve uma elevada ARN na folha +1 em relação as raízes, apesar de um maior teor de Mo encontrado nas raízes em relação a parte aérea (Tabela 2). Era de se esperar que onde a ARN fosse maior, mais elevado também fosse o teor de Mo. Isto não ocorreu, sugerindo que essa diferença no teor de Mo entre parte aérea e raízes foi influenciada pela maior produção de biomassa de folhas do que de raízes, diluindo ou concentrando o nutriente. O acúmulo de Mo na parte aérea certamente foi maior do que nas raízes, porque neste cálculo se considera a quantidade de biomassa produzida, influenciando a quantidade do nutriente acumulado, como discutido anteriormente.

Otto et al. (2009) avaliaram a fitomassa seca da parte aérea e das raízes produzida pela cana-de-açúcar. Segundo os autores, a produção média de matéria seca na parte aérea foi de 57 Mg ha^{-1} e nas raízes foi de 2,5 Mg ha^{-1} , ou seja, a fitomassa da parte aérea foi cerca de 23 vezes maior que a de raiz, justificando o efeito, respectivamente, de diluição e concentração.

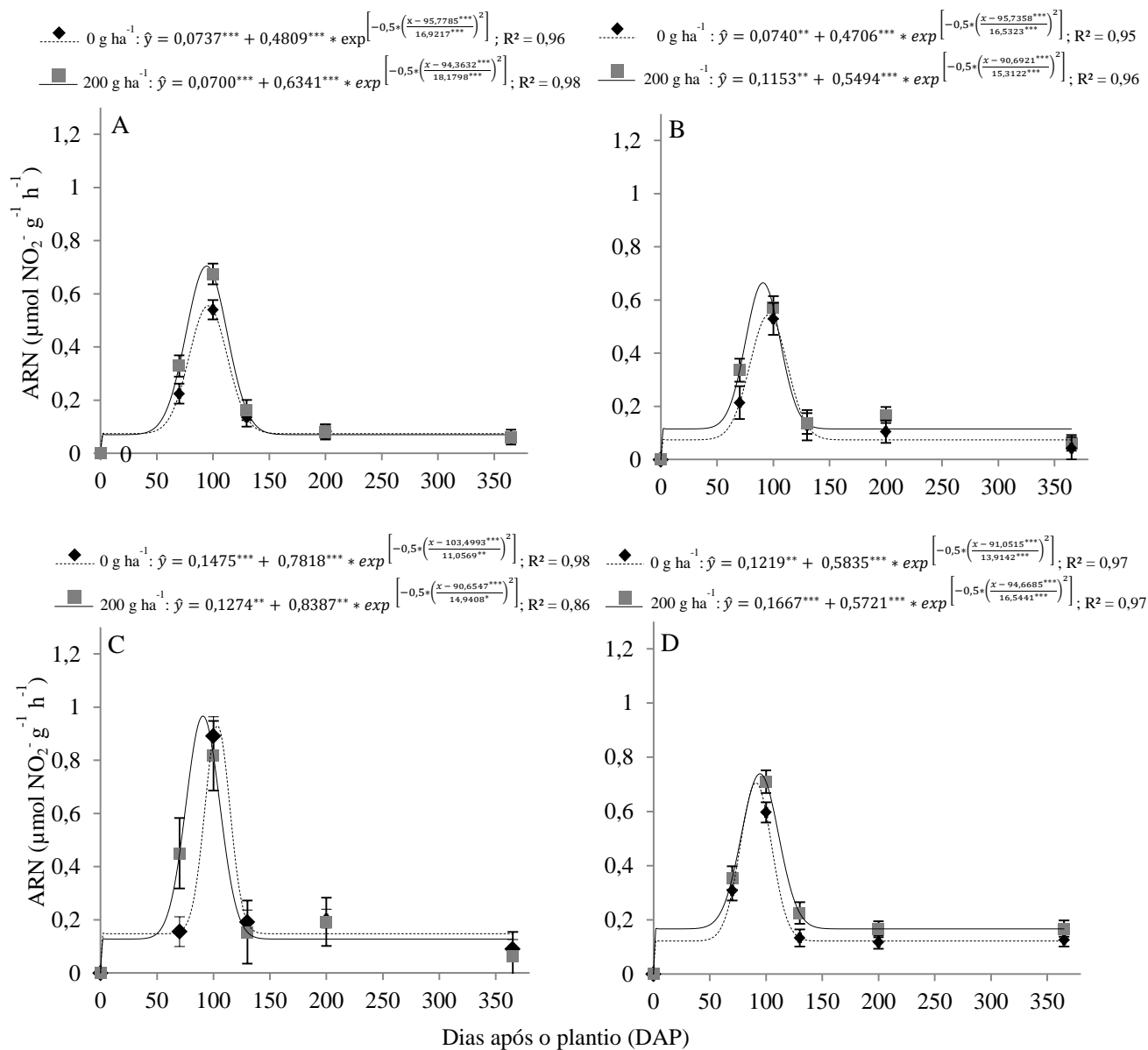


Figura 2. Atividade da redutase do nitrato (ARN) na folha +1 de cana-de-açúcar na ausência e na presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP).

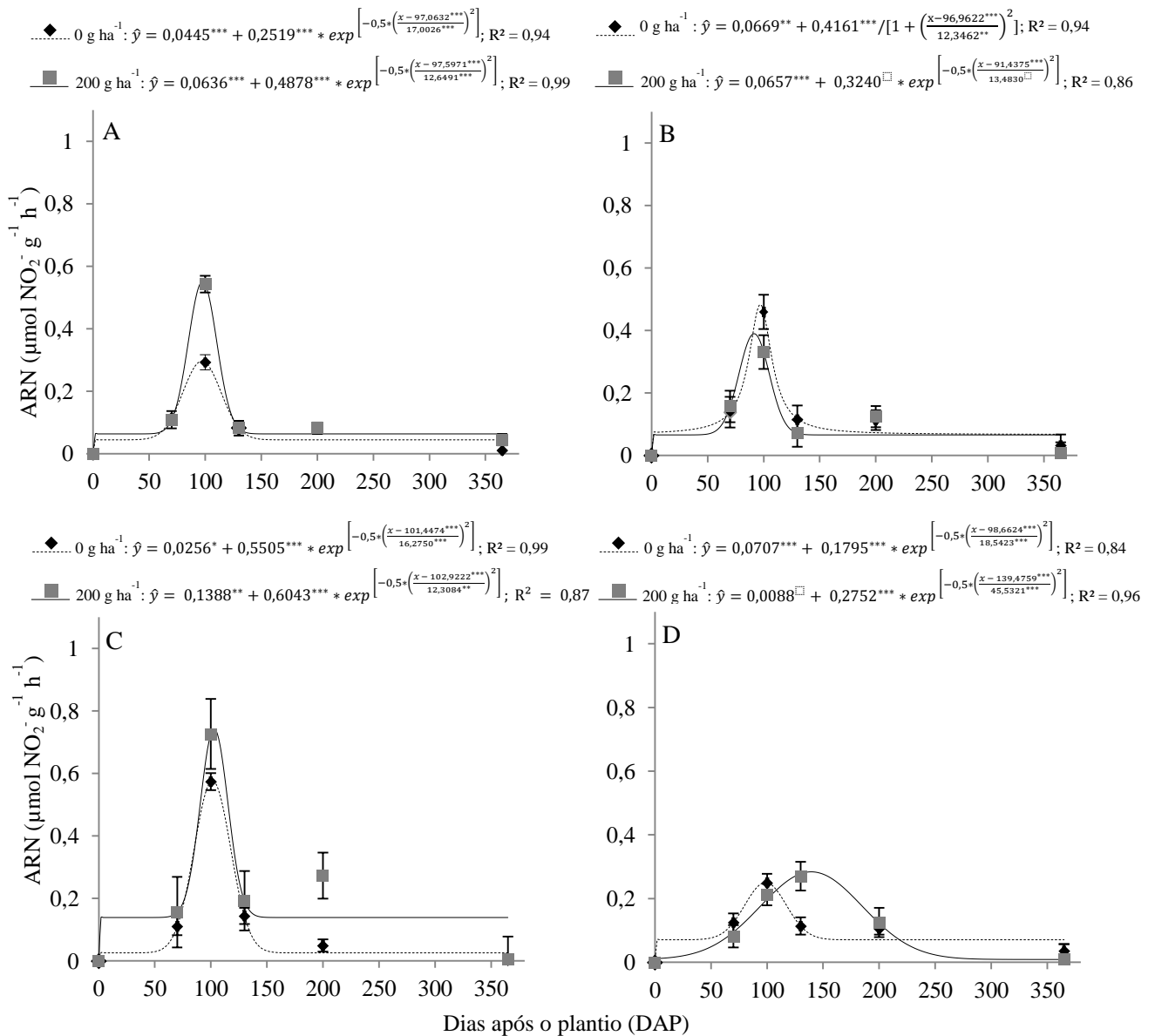


Figura 3. Atividade da redutase do nitrato (ARN) nas raízes de cana-de-açúcar na ausência e na presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP).

Outro aspecto que diferenciou a ARN na folha +1 das raízes das variedades foi o tempo para a ARN atingir sua máxima expressão. Enquanto que na folha +1 este pico foi atingido, em média, com 94,5 dias, nas raízes isto só ocorreu aos 103 dias, ou seja, cerca de 10 dias depois (Figuras 2 e 3). Neste período, o metabolismo nitrogenado de assimilação de N foi reduzido na parte aérea, mas se prolongou nas raízes.

Em média, a ARN na folha +1 e nas raízes da variedade RB92579 foi maior do que na RB867515 (Figuras 2 e 3). Esta diferença foi maior na folha +1 e mais estreita nas raízes. A ARN na folha +1 e nas raízes da variedade RB92579 foi, em média, de 0,83 e 0,46 $\mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$, respectivamente. Na RB867515, a ARN na folha +1 e nas raízes foi, em média, de 0,61 e 0,43 $\mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$, respectivamente. Esse comportamento permite sugerir que a RB92579 tenha preferência em absorver nitrato quando comparada a RB867515.

A ARN pode variar com os genótipos de cana-de-açúcar (HEMAPRABHA et al., 2013). Entre outros aspectos, a preferência de absorção por uma das formas de N, nítrica ou amoniacal, altera a atividade da enzima. Quanto maior a presença de nitrato no solo e havendo sua absorção, o que é mais comum, maior será a atividade da enzima na planta (ROBINSON et al., 2011; WANG et al., 2011). Caso a preferência do genótipo seja por amônio, a atividade da enzima é baixa, podendo ser nula.

Tradicionalmente se admite que as plantas absorvem preferencialmente a forma nítrica de N. No caso específico da cana-de-açúcar há relatos de que esta preferência seria pela forma amoniacal. Estas divergências podem ser varietais (ARMAS et al., 1992; ROBINSON et al., 2011). De acordo com o trabalho desenvolvido por Armas et al. (1992), quando a variedade de cana cubana Ja 605 recebeu solução nutritiva durante 45 dias com N na forma de amônio, a biomassa fresca foi 27% maior em relação a cana que recebeu N na forma nítrica.

Em pesquisa realizada em sistema hidropônico, utilizando-se de fertilizantes enriquecidos com ^{15}N ($^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3$ e/ou $\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$), Robinson et al. (2011) observaram que quando as variedades de cana (Q138, Q157 e Q179) tiveram contato com solução contendo elevada concentração de N com proporções semelhantes de nitrato e amônio por 24 h, elas absorveram mais a forma catiônica do nutriente. De acordo com os autores, a preferência na incorporação do amônio a nitrato foi cerca de cinco vezes nas raízes e de quatro a dez vezes nos perfilhos.

A preferência por amônio a nitrato por variedades de cana, como discutido anteriormente, foi reforçada com experimentação em campo realizada por Robinson et al. (2011). Após abertura de trincheira e incubação *in situ* do sistema radicular por 30 e 120 minutos, em solução nutritiva contendo fertilizante enriquecido com ^{15}N , os autores observaram que, independente do tempo de incubação, a absorção do N na forma catiônica foi superior a forma aniônica. Provavelmente, nesses dois casos a ARN foi baixa.

Neste trabalho, contrariamente ao que se tem observado na literatura, houveram indícios de que a variedade RB92579 teve preferência em absorver N na forma nítrica. É necessário, entretanto, utilizando outras metodologias, avançar nesta sinalização, que pode ser de elevada importância na nutrição nitrogenada desta variedade, muito cultivada no Nordeste do Brasil.

A adição de N reduziu a ARN na folha +1 e nas raízes, independente da variedade e da aplicação de Mo (Figuras 2 e 3). No entanto, esta redução foi bem mais acentuada na variedade RB92579, principalmente nas raízes. Como a fonte de N utilizada para a adição deste nutriente foi a ureia, houve um incremento nos teores de NH_4^+ no solo, mesmo que tenha sido por um curto período de tempo, que resultou numa maior absorção de N na forma de amônio, que não exerce influência na ARN. O metabolismo de assimilação de N da RB92579 parece dependente do teor de nitrato, pois sua possível diminuição no solo influenciou negativamente na ARN desta variedade. A RB867515 não alterou seu metabolismo de assimilação de N, manteve a ARN praticamente inalterada, mesmo com uma maior quantidade de amônio no solo.

Em experimento desenvolvido por Armas et al. (1992) foi observado que quando a cana-de-açúcar foi submetida à ambiente apenas com o N na forma de amônio, a ARN na folha +1 destas plantas foi reduzida, representando apenas 45% do valor da atividade das plantas cultivadas com N na forma de nitrato. Neste ensaio as avaliações da ARN foram realizadas em plantas com seis meses de idade e a cada 45 dias recebiam solução nutritiva com N na forma catiônica ou aniônica, em substrato composto por vermiculita e turfa.

Tanto na folha +1, como nas raízes a presença de Mo potencializou a ARN, independente da variedade e da adição de N (Figuras 2 e 3). O Mo exerceu seu papel de ativador da reductase do nitrato. A adição de Mo também reduziu o tempo para que a ARN atingisse seu pico de maior atividade, principalmente na folha +1, sem adição de N na variedade RB92579 (Figura 2). Esta antecipação para a ARN atingir seu pico de maior atividade parece ser importante para as plantas, pois quanto mais cedo houver formação de compostos como aminoácidos e proteínas, precocemente a cana pode se estruturar e metabolicamente se preparar para desenvolver suas atividades de produção, como, por exemplo, concentrar açúcar.

O efeito da aplicação de Mo na ARN na folha +1 da variedade RB867515 sem adição de N foi maior (Figuras 2A e B). Isso possivelmente se deveu a maior absorção de N na forma de NO_3^- quando não se adubou com N, ou seja, em solos não fertilizados com N o efeito do Mo na ARN foi mais pronunciado. Quanto maior a presença de

nitrato no solo e sua absorção, o que é mais comum em solos não fertilizados (WANG et al., 2011), maior será a atividade da enzima no tecido da cana, como observado.

Li-Ping et al. (2007) conduziram um experimento com duas variedades de cana-de-açúcar, a RB72454 e a RB7575 em sistema hidropônico com areia, sob quatro concentrações crescentes de Mo (0; 0,01; 0,02; e 0,04 mg L⁻¹) e avaliaram a ARN aos 50, 60 90 e 110 DAP. Os autores observaram que a ARN na folha +1 foi elevada pelo aumento da concentração de Mo na solução nutritiva, no entanto, os incrementos não foram proporcionais e nem constantes.

Teor de nitrato na folha +1 e nas raízes

Os dados dos teores de nitrato na folha +1 e nas raízes das variedades de cana, independente da aplicação de N e de Mo não se ajustaram a nenhum modelo de regressão, ao longo do cultivo da cana planta.

De uma maneira geral o teor de nitrato na folha +1 das variedades de cana-de-açúcar foi superior ao teor nas raízes, crescendo, em média, de 166,73 para 184,65 mg kg⁻¹ na variedade RB867515 e de 123,39 para 160,16 mg kg⁻¹ na RB92579 (Tabela 3), mesmo tendo ocorrido uma maior ARN nas folhas, comparativamente as raízes (Figuras 2 e 3). Era de se esperar que com uma maior ARN, o teor de nitrato tivesse se reduzido nas folhas. Uma explicação para que isto não tenha ocorrido é que como a assimilação do N ocorre mais intensamente na parte aérea, o acúmulo de nitrato neste compartimento foi elevado e a ARN não foi capaz de atender toda a demanda. É possível que a dose de Mo utilizada não tenha sido suficiente para atender a demanda da redutase do nitrato, influenciando sua atividade nas folhas. Inclusive, constatou-se anteriormente, que o teor de Mo na folha +1 foi menor do que nas raízes (Tabela 2). Mesmo o Mo tendo potencializado a ARN, inclusive na folha +1 (Figura 2) não foi suficiente para uma assimilação adequada de todo o substrato.

O teor de nitrato na folha +1 das variedades não foi estatisticamente diferente, apesar da variedade RB92579 ter apresentado um teor menor (Tabela 3). Entretanto, nas raízes esta diferença se alargou e o teor de nitrato da RB92579 foi significativamente menor do que o da RB867515. Neste caso também, era de se esperar que o que aconteceu nas raízes também tivesse acontecido na parte aérea, ou seja, uma redução significativa nos teores de nitrato na folha +1 da variedade RB92579 devido a maior ARN desta variedade. Uma explicação possível para isto, é que tenha havido uma elevada absorção de nitrato por esta variedade, resultado de uma provável preferência de absorção por esta forma de N, fazendo com que a redutase do nitrato não tenha tido

atividade suficiente para atender a demanda, o que remete para uma possível insuficiência de Mo (Tabela 2). No caso das raízes, como o metabolismo de assimilação de N se reduz em relação à parte aérea, a redutase do nitrato teve atividade suficiente para metabolizar o nitrato.

Tabela 3. Teor de nitrato na folha +1 e nas raízes das variedades de cana-de-açúcar RB867515 e RB92579 na ausência e presença de molibdênio e na ausência e presença de nitrogênio aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP)

Folha +1								
Fator	RB867515				RB92579			
	S/Mo		C/Mo		S/Mo		C/Mo	
	S/N	C/N	S/N	C/N	S/N	C/N	S/N	C/N
DAP	mg kg ⁻¹							
70	320,55	367,97	295,55	303,33	2,55	527,36	70,00	280,00
100	47,33	0,00	256,67	46,67	495,14	230,25	46,67	0,00
130	172,96	123,95	762,22	210,00	233,95	186,29	116,67	303,33
200	47,29	0,00	0,00	0,00	1,04	46,04	11,67	11,67
\bar{N}	147,03 a	122,98 a	328,61 a	140,00 b	183,17 a	247,48 a	61,25 b	148,75 a
\bar{Mo}	135,01 b		234,30 a		215,33 a		105,00 b	
Variedade	184,65 a				160,16 a			
Raiz								
Fator	RB867515				RB92579			
	S/Mo		C/Mo		S/Mo		C/Mo	
	S/N	C/N	S/N	C/N	S/N	C/N	S/N	C/N
DAP	mg kg ⁻¹							
70	66,93	51,78	280,00	46,67	0,00	373,39	140,00	326,67
100	46,02	257,74	536,67	46,67	0,00	305,19	140,00	0,00
130	348,68	235,53	357,78	210,00	222,18	70,02	46,67	93,33
200	77,06	94,52	11,67	0,00	116,82	46,58	46,67	46,67
\bar{N}	134,67 a	159,89 a	296,53 a	75,83 b	84,75 b	198,79 a	93,33 a	116,67 a
\bar{Mo}	147,28 b		186,18 a		141,77 a		105,00 b	
Variedade	166,73 a				123,39 b			

\bar{N} : média de N; \bar{Mo} : média de Mo; Variedade: média das variedades; Par de letras minúsculas iguais na linha não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A presença do Mo reduziu o teor de nitrato tanto na folha +1, como nas raízes da variedade RB92579 (Tabela 3). Esta redução foi maior na parte aérea do que nas raízes, coerente com a maior ARN neste compartimento (Figura 2). Comportamento inverso apresentou a variedade RB867515, ou seja, a presença de Mo, tanto na folha +1, como nas raízes, fez com que houvesse um acúmulo de nitrato, mesmo tendo teores expressivos de Mo nestes dois compartimentos da planta (Tabela 2), aliado a um

incremento da ARN com a adição de Mo (Figuras 2 e 3). O Mo também atua sobre o AIA (KAISER et al., 2005), o que pode ter promovido um maior crescimento radicular e uma maior absorção de N pela RB867515. Considerando que a disponibilidade de nitrato no solo é maior do que a de amônio, mais nitrato teria sido absorvido pela RB867515, causando seu acúmulo, porque a ARN desta variedade é mais reduzida do que na RB92579 (Figuras 2 e 3).

A adição de N na variedade RB92579, independente da ausência ou presença de Mo incrementou o teor de nitrato, tanto na folha +1, como nas raízes desta variedade (Tabela 3). Como a absorção de N na forma de nitrato cresceu, mesmo o Mo tendo potencializado a ARN, não foi suficiente para metabolizar a quantidade de nitrato absorvida (BISCARO et al., 2011).

A fertilização nitrogenada foi com ureia, que nos primeiros dias de sua aplicação pode aumentar o teor de amônio do solo, porém tende com o passar do tempo a se oxidar a nitrato, elevando seu teor. Avaliando as transformações dos fertilizantes nitrogenados, Gargantini & Catani (1957) observaram que 10 dias após a aplicação, 77 e 9% da ureia haviam se convertido a amônio e nitrato, respectivamente; aos 40 dias já representavam, respectivamente 80 e 20%. Entretanto, nesta avaliação, o processo de nitrificação se encontrava em crescimento linear, indicando que ao logo do ciclo da cana-de-açúcar há incrementos significativos de nitrato com a aplicação de ureia.

Resultados de nitrificação mais intensa do N oriundo da ureia foram observados por Lorensini et al. (2014). De acordo com os autores, os maiores teores de amônio ocorreram do tempo zero aos 38 dias após a incubação, sendo reduzido posteriormente. Por outro lado, o teor de nitrato foi de 9 a 150 mg kg⁻¹ aos 38 dias após a incubação, ou seja, nesse período a disponibilidade de nitrato foi aumentada em 16,7 vezes, correspondendo 30 vezes ao valor de amônio. A este comportamento se atribui a rápida solubilização da ureia, liberando amônio, que posteriormente é oxidado à nitrito, pelas bactérias do gênero *Nitrobacter*, e a nitrato, por bactérias do gênero *Nitrossomonas* (LORENSINI et al., 2014).

Na variedade RB867515, a adição de N na ausência de Mo não interferiu significativamente nos teores de nitrato, tanto na folha +1, como nas raízes desta variedade. Quando se adicionou Mo, concomitante com a fertilização nitrogenada ocorreu redução significativa dos teores de nitrato, tanto na folha +1, como nas raízes da RB867515 (Tabela 3). O rápido incremento no teor de amônio no solo quando se fertilizou a cana com ureia (GARGANTINI & CATANI, 1957), pode ter sido suficiente para uma maior absorção de amônio desta variedade, em detrimento do nitrato. Neste

caso, a redução do teor de nitrato foi possivelmente muito mais devido a maior absorção de amônio, do que a uma possível maior ARN. Se esta variedade conseguiu absorver amônio no curto intervalo de tempo em que esta forma de N predominou no solo, pode sugerir uma preferência desta variedade por amônio, do mesmo modo que tem havido indícios de que a RB92579 apresentou uma maior preferência por nitrato, inclusive porque apresentou um comportamento de acumulação de nitrato, que foi antagônico em relação a RB867515.

Teor de amônio na folha +1 e nas raízes

Os teores de amônio das variedades na folha +1 não foram diferentes, ou seja, não há diferença de acúmulo de amônio entre a RB867515 e a RB92579 (Tabela 4), assim como ocorreu com o teor de nitrato na parte aérea das variedades (Tabela 3).

Nas raízes constatou-se mais amônio na RB92579 do que na RB867515. É como se a rota metabólica de assimilação de N na RB867515 fosse amoniacal, o que explicaria encontrar-se menor acúmulo de amônio nesta variedade. Na RB92579 a rota metabólica parece ser a nítrica, comprovada por uma significativa maior ARN (Figura 3), o que explicaria maior acúmulo de amônio nesta variedade. Estas constatações sugerem mais uma vez uma possível preferência de absorção de N, da RB867515 por amônio e da RB92579 por nitrato.

Como era de se esperar, a adição de Mo não interferiu nos teores de amônio na folha +1 e nas raízes das variedades (Tabela 4). O Mo não interfere na assimilação de N, quando a forma de incorporação em aminoácidos e proteínas é o amônio. Li-Ping et al. (2007) também não observaram alterações no teor de amônio na folha +3 das variedades RB72454 e RB867575 pela aplicação de Mo.

Tabela 4. Teor de amônio na folha +1 e nas raízes das variedades de cana-de-açúcar RB867515 e RB92579 na ausência e presença de molibdênio e na ausência e presença de nitrogênio aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP)

Folha +1								
Fator	RB867515				RB92579			
	S/Mo		C/Mo		S/Mo		C/Mo	
	S/N	C/N	S/N	C/N	S/N	C/N	S/N	C/N
DAP	mg kg ⁻¹							
70	260,33	343,89	116,67	140,00	196,39	246,16	291,67	245,00
100	158,11	137,76	140,00	155,55	153,54	141,21	268,33	155,55
130	240,09	257,07	280,00	326,67	256,86	209,88	221,67	221,67
200	95,52	66,35	46,67	46,67	50,31	67,81	58,33	93,33
\bar{N}	188,51 a	201,27 a	145,83 a	167,22 a	164,27 a	166,26 a	210,00 a	178,89 a
\bar{Mo}	194,89 a		156,53 a		165,27 a		194,44 a	
Variedade	175,71 a				179,86 a			
Raiz								
Fator	RB867515				RB92579			
	S/Mo		C/Mo		S/Mo		C/Mo	
	S/N	C/N	S/N	C/N	S/N	C/N	S/N	C/N
DAP	mg kg ⁻¹							
70	157,62	152,12	210,00	116,67	188,09	279,14	186,67	210,00
100	187,67	153,88	171,11	217,78	208,32	211,00	210,00	264,44
130	232,14	258,66	256,67	295,55	179,98	330,68	163,33	291,67
200	190,56	133,51	62,22	155,55	167,68	198,06	140,00	93,33
\bar{N}	192,00 a	174,54 a	175,00 a	196,39 a	186,02 b	254,72 a	175,00 a	214,86 a
\bar{Mo}	183,27 a		185,69 a		220,37 a		194,93 a	
Variedade	184,48 b				207,65 a			

\bar{N} : média de N; \bar{Mo} : média de Mo; Variedade: média das variedades; Par de letras minúsculas iguais na linha não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O teor de amônio da folha +1 e nas raízes, independente da variedade e da adição de Mo não se altera com aplicação da fertilização nitrogenada (Tabela 4). Mesmo que por um curto espaço de tempo, a adição de N tenha proporcionado uma maior disponibilidade de amônio em detrimento a nitrato, há a posteriormente um predomínio natural de nitrato no solo (LORENSINI et al., 2014), o que pode explicar a não interferência da fertilização nitrogenada nos teores de amônio na parte aérea. Como discutido anteriormente, mesmo que a RB867515 tenha aproveitado a maior disponibilidade de amônio no solo, logo após a fertilização com N e aumentado sua absorção, a assimilação de N, por uma rota amoniacal desta variedade pode ter consumido o amônio, reduzindo seu acúmulo.

Conclusões

A aplicação de Mo elevou o teor de Mo na folha +1 e raízes da cana-de-açúcar e potencializou a ARN;

A máxima ARN ocorreu por cerca de 100 DAP da cana-de-açúcar, sugerindo-se que para estudos nutricionais de N, essa seja a melhor época de avaliação;

A ARN nas raízes é cerca de 10 dias mais tardia do que na folha +1, sendo na RB92579 foi maior que na RB867515 em ambos os tecidos;

A aplicação de Mo reduziu os teores de nitrato na parte aérea e raízes da RB92579 e aumentou na RB867515, sugerindo que as rotas metabólicas de assimilação de N das variedades são antagônicas.

Referências bibliográficas

ALVAREZ, R.; WUTKE, A.C.P. Adubação da cana-de-açúcar. XV - experimentos com micronutrientes nas regiões canavieiras do estado de São Paulo. **Bragantia**, v.38, p.647-650, 1963.

ALVAREZ, V. V. H.; NOVAIS, R. F.; DIAS, L. E.; OLIVEIRA, J. A. **Determinação e uso do fósforo remanescente**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. p. 27-33. (Boletim Informativo, 25).

ARMAS, R. DE et al. Influence of Ammonium and Nitrate on the Growth and Photosynthesis of Sugarcane. **Journal of Plant Physiology**, v. 140, p. 531–535, 1992.

BAPTISTA, R. B. et al. Variations in the ¹⁵N natural abundance of plant-available N with soil depth: Their influence on estimates of contributions of biological N₂ fixation to sugar cane. **Applied Soil Ecology**, v. 73, p. 124–129, jan. 2014.

BELTÃO, B. A. et al. **Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea - Estado de Pernambuco: Diagnóstico do município de Carpina**. [s.l.] CPRM - Serviço Geológico do Brasil, 2005. p. 11

BEZERRA NETO, E.; BARRETO, L. P. **Análises Químicas e Bioquímicas em Plantas**. Recife: UFRPE, Editora Universitária da UFRPE, 2011. 261p.

BISCARO, G. A. et al. Nitrogênio em cobertura e molibdênio via foliar no feijoeiro irrigado cultivado em solo de cerrado. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 33, n. 4, p. 665–670, 29 set. 2011.

BOUWMAN, A. F.; DRECHT, G. VAN; HOEK, K. W. VAN DER. Surface N balances and reactive N loss to the environment from global intensive agricultural

- production systems for the period 1970 — 2030. **Science in China Series C Life Sciences**, v. 48, p. 1–13, 2005.
- BRENNAN, R. F.; BOLLAND, M. D. A. Increased Concentration of Molybdenum in Sown Wheat Seed Decreases Grain Yield Responses to Applied Molybdenum Fertilizer in Naturally Acidic Sandplain Soils. **Journal of Plant Nutrition**, v. 30, n. 12, p. 2005–2019, 3 dez. 2007.
- CHAPOLA ET AL., R. G. **Censo varietal 2012**. Araras: CCA-UFSCar, 2012. p. 55
- EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa, 1997. p. 212
- EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes** / editor técnico, Fábio Cesar da Silva. - 2. ed. rev. ampl. - Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 627 p., 2009.
- FRANCO, H. C. J. et al. Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer under Brazilian field conditions. **Field Crops Research**, v. 121, n. 1, p. 29–41, fev. 2011.
- GARGANTINI, H.; CATANI, R. A. **Determinação do período de tempo para amonificação e nitrificação de diversos fertilizantes nitrogenados**. **Boletim Técnico**, Campinas-SP, Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo, , 1957.
- HAGEMAN, R.H.; REED, A.J. **Nitrate reductase from higher plants**. San Diego: Academic Press, 1980. p.270-280. (Methods in Enzymology, v.69).
- HEMAPRABHA, G. et al. Evaluation of Drought Tolerance Potential of Elite Genotypes and Progenies of Sugarcane (*Saccharum sp . hybrids*). **Sugar Tech**, v. 15, n. 1, p. 9–16, 2013.
- HERRIDGE, D. F.; PEOPLES, M. B.; BODDEY, R. M. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. **Plant and Soil**, v. 311, n. 1-2, p. 1–18, 11 jul. 2008.
- HIREL, B. et al. Improving Nitrogen Use Efficiency in Crops for Sustainable Agriculture. **Sustainability**, v. 3, n. 12, p. 1452–1485, 7 set. 2011.
- JADOSKI, C. J. et al. Fisiologia do desenvolvimento do estágio vegetativo da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* l .). **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v. 3, n. 2, p. 169–176, 2010.
- KAISER, B. N. et al. The Role of Molybdenum in Agricultural Plant Production. **Annals of Botany**, v. 96, p. 745–754, 2005.
- LI-PING, W.; YANG-RUI, L.; LI-TAO, Y. Effects of Molybdenum on Nitrogen Metabolism of Sugarcane. **Sugar Tech**, v. 9, n. 1, p. 36–42, 2007.

- LORENSINI, F. et al. Disponibilidade de nitrogênio de fontes minerais e orgânicas aplicadas em um Argissolo cultivado com videira. **Revista Ceres**, v. 61, n. 2, p. 241–247, 2014.
- OLIVEIRA, A. C. DE. **Interação da adubação nitrogenada e molibídica em cana-de-açúcar**. [s.l.] Universidade Federal Rural de Pernambuco - Recife, 2012.
- OLIVEIRA, E. C. A. DE et al. Extração e exportação de nutrientes por variedades de cana-de-açúcar cultivadas sob irrigação plena. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 4, p. 1343–1352, 2010.
- OTTO, R. et al. Fitomassa de raízes e da parte aérea da cana-de-açúcar relacionada à adubação nitrogenada de plantio. **Pesquisa**, v. 44, n. 4, p. 398–405, 2009.
- POLIDORO, J. C. **O molibdênio na nutrição nitrogenada e na contribuição da fixação biológica de nitrogênio associada a cultura da cana-de-açúcar**. [s.l.] Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - Seropédica, 2001.
- RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ VENEGAS, V. H. (ED.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5. Aproximação**. Viçosa: Comissão de fertilidade do solo do estado de Minas Gerais, 1999. p. 359
- ROBINSON, N. et al. Nitrate paradigm does not hold up for sugarcane. **PloS one**, v. 6, n. 4, p. e19045, jan. 2011.
- SHEARER, G.; KOHL, D. H. N₂-Fixation in Field Settings: Estimations Based on Natural ¹⁵N Abundance. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 13, p. 699–756, 1986.
- SIMÕES NETO, D. E. et al. Níveis críticos de fósforo em solos cultivados com cana-de-açúcar em Pernambuco. **Revista Ceres**, v. 58, n. 6, p. 802–810, 2011.
- TEDESCO, M.J. , et al. **Análises de solos, plantas e outros materiais**. 2^aed. Porto Alegre, UFRGS. 1995. 174p. (Boletim Técnico, 5).
- WANG, T.-H. et al. Enzyme kinetics, inhibitors, mutagenesis and electron paramagnetic resonance analysis of dual-affinity nitrate reductase in unicellular N(2)-fixing cyanobacterium *Cyanothece* sp. PCC 8801. **Plant physiology and biochemistry : PPB / Société française de physiologie végétale**, v. 49, n. 11, p. 1369–76, nov. 2011.
- WOLFINGER, R.; CHANG, M. **Comparing the SAS ® GLM and MIXED Procedures for Repeated Measures**. Disponível em: <<http://support.sas.com/rnd/app/stat/papers/mixedglm.pdf>>. Acesso em: 26 ago. 2014.

Capítulo II

Molibdênio como potencializador da fixação biológica de N em cana-de-açúcar

Molybdenum as enhancer of the biological nitrogen fixation in sugar cane

Resumo

As doses de N aplicadas em canaviais no Brasil correspondem a cerca da metade das praticadas na Índia, nos EUA, na Colômbia e na Austrália. Porém, mesmo assim, o Brasil é o maior produtor mundial. Se considerarmos que há um baixo aproveitamento de fertilizantes nitrogenados, é provável que a maior parte do N absorvido pela cana-de-açúcar seja oriundo da mineralização da matéria orgânica do solo e/ou da atmosfera. Estes fatos têm apoiado a hipótese que a cultura apresenta associação com bactérias que realizam fixação biológica de nitrogênio (FBN), que efetivamente se realiza por meio da atividade da nitrogenase (AN), enzima presente em algumas bactérias e responsável pela redução do N₂ atmosférico a NH₃, que é assimilado pelas plantas. O Mo é essencial para AN, estando a atividade da enzima em proporção direta com a sua concentração. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adubação molíbdica na AN na FBN de diferentes variedades de cana-de-açúcar, adubadas com N, em diferentes estádios de crescimento da cultura. Para isso, foram cultivadas duas variedades de cana-de-açúcar (RB867515 e RB92579), submetidas a duas doses de N (0 e 60 kg ha⁻¹) e duas doses de Mo (0 e 200 g ha⁻¹), compondo arranjo fatorial de (2 x 2 x 2). Aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP) foi avaliada AN na folha +1 e nas raízes das plantas. Aos 100, 130, 200 e 365 DAP determinaram-se os valores de δ¹⁵N na folha +1 e estimou-se a FBN pelo método da abundância natural de ¹⁵N. A AN foi máxima por cerca de 100 DAP, sendo maior na variedade RB92579, tanto na folha +1, como nas raízes. A adubação com Mo potencializou a AN na variedade RB867515 e reduziu na RB92579. As variedades de cana-de-açúcar RB867515 e RB92579 fixaram N, que foi potencializada pela adubação molíbdica, principalmente, na ausência de N.

Palavras-chave: *Saccharum* spp., adubação molíbdica, atividade da nitrogenase, abundância natural de ¹⁵N.

Abstract

N rates used in sugar cane plantations in Brazil account for about half of the rates used in India, the USA, Colombia and Australia. Yet Brazil is the world's largest producer. If we consider that there is a low use of nitrogen fertilizers, it is likely that most of the N absorbed by sugar cane plants is derived from the mineralization of soil organic matter and/or the atmosphere. These facts have supported the hypothesis that a culture presents association with bacteria that perform biological nitrogen fixation (BNF), which effectively takes place through the nitrogenase activity (NA). This enzyme is present in some bacteria and is responsible for the reduction of atmospheric N₂ to NH₃, which is assimilated by plants. The Mo is essential for AN, with the enzyme activity in direct proportion to Mo concentration. The aim of this study was to evaluate the effect of molybdenum fertilization in AN and BNF in different sugar cane varieties that were N fertilized at different stages of crop growth. To this aim and under field conditions, two varieties of sugar cane (RB867515 and RB92579) were grown and submitted to two N levels (0 and 60 kg ha⁻¹) and two Mo levels (0 and 200 g ha⁻¹) in a 2 x 2 x 2 factorial design. The concentrations of AN in the leaf +1 and roots were evaluated at 70, 100, 130, 200 and 365 days after planting (DAP). At the 100, 130, 200 and 365 DAP the δ¹⁵N values in leaf +1 were determined and the BNF was estimated using the ¹⁵N natural abundance method. The AN had the maximum value about 100 DAP, and was highest in the RB92579 variety, both in the leaf +1 and the root. The Mo fertilization enhanced the AN in the RB867515 variety but reduced the AN in the RB92579 variety. Both the varieties of sugar cane RB867515 and RB92579 fixed N, which was enhanced by Mo fertilization, especially in the absence of N.

Key words: *Saccharum* spp., Mo fertilization, nitrogenase activity, ¹⁵N natural abundance

Introdução

O Brasil é um tradicional produtor de cana-de-açúcar, sendo responsável por 33% da produção mundial (JADOSKI et al., 2010). Além da elevada produção da cultura alcançada pelo país, um detalhe nutricional desperta atenção. Se comparado com outros produtores de cana, como a Índia, os EUA, a Colômbia e a Austrália, observa-se que as fertilizações nitrogenadas no Brasil ainda são baixas e, em média, correspondem a 40% das doses aplicadas naqueles países (BAPTISTA et al., 2014).

Diversos estudos têm deixado uma lacuna em relação à origem do N absorvido pela cana-de-açúcar, sendo sugerido que o maior percentual deriva de fontes não minerais. Umesh et al. (2013) na Índia em condições de campo, observaram cana-de-açúcar extraindo em torno de 100 kg ha⁻¹ de N, no entanto, só foram aplicados 75 kg ha⁻¹, um déficit de 25 kg ha⁻¹, sem considerar as perdas do sistema, que podem ultrapassar 50% do fertilizante aplicado (BOUWMAN et al., 2005). Oliveira et al. (2011a) avaliaram 11 genótipos de cana-de-açúcar em Pernambuco e constataram extrações de 94 a 260 kg ha⁻¹ de N, quando só aplicaram 80 kg ha⁻¹ de N. Utilizando fertilizante nitrogenado enriquecido com ¹⁵N, Franco et al. (2011) observaram que ao longo do crescimento da cultura, a contribuição do fertilizante no N absorvido variou de 15 a 44% aos 134 após o plantio e de 5 a 13% na colheita, no ciclo de cana-planta.

Sabendo que o N em forma inorgânica no solo corresponde a apenas 2% do N total e que sua concentração é baixa em relação à demanda da cana, que se associa a uma baixa contribuição do fertilizante nitrogenado durante o ciclo da cultura, é provável que a maior parte do nutriente absorvido pela cana seja oriunda da mineralização da matéria orgânica do solo e/ou da atmosfera (BOUWMAN et al., 2005; FRANCO et al., 2011; BAPTISTA et al., 2014). Estes fatos têm apoiado a hipótese que a cultura apresente associação com bactérias que realizam fixação biológica de nitrogênio (FBN), que reduzem o N₂ atmosférico a NH₃ por meio da atividade da nitrogenase (AN) e desta forma seja assimilado pelas plantas (HERRIDGE et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2011b).

A técnica mais utilizada para avaliar a AN é a redução de acetileno. Quando a nitrogenase se encontra na presença de acetileno (C₂H₂), promove sua redução para etileno (C₂H₄), e isso acontece com o mesmo gasto energético que a conversão do N₂ atmosférico a NH₃. Sendo assim, a taxa na qual acontece a redução do acetileno a etileno avalia indiretamente a AN (HARDY et al., 1968).

O Mo é o regulador enzimático da nitrogenase. Sendo assim, a sua concentração e incorporação a enzima estão diretamente ligadas a AN e, possivelmente, a FBN, sendo

diretamente proporcionais. (LI-PING et al., 2007; HERNANDEZ et al., 2008). Isto fica evidenciado no trabalho realizado *in vitro* por Hernandez et al. (2008), que ao sintetizarem a nitrogenase observaram que a AN foi elevada com o aumento da concentração de Mo no meio.

Li-Ping et al. (2007) avaliaram a AN em duas variedades de cana (RB72454 e RB867575) sob o efeito de doses crescentes de Mo (0; 0,01; 0,02 e 0,04 mg L⁻¹), na ausência e presença de N. Sob adubação nitrogenada as doses de Mo promoveram aumento da AN nas raízes e no colmo das duas variedades, e nas folhas apenas na RB72454. Na ausência de N, as doses de Mo elevaram a AN nas folhas e no colmo da variedade RB867575, mas reduziu na RB72454, o que evidencia a diferença de comportamento entre variedades, mostrando especificidade entre genótipos e a necessidade de mais pesquisas, principalmente que aprofundem o uso desta metodologia nos estudos da FBN em cana-de-açúcar.

A AN também pode ser influenciada pela disponibilidade de N. A AN é reduzida ou nula quando há grande disponibilidade de N inorgânico no solo, como mecanismo de regulação de energia por parte dos vegetais. Day et al. (1975) observaram que até sete horas após a aplicação de fertilizante nitrogenado, a AN em raízes de *Paspalum notatum* foi reduzida, e após 24 h a atividade da enzima retornou a valores próximos aos apresentados por plantas com o suprimento contínuo do nutriente. Ainda constataram que a *Brachiaria decumbens* e o *Pennisetum purpureum* apresentaram AN reduzida duas semanas após a aplicação de 20 kg ha⁻¹ de N.

Para contribuir com a temática e gerar informações técnico-científicas sobre esta importante fonte de N para a cana-de-açúcar, este trabalho objetivou avaliar o efeito da adubação molíbdica na AN e na FBN de diferentes variedades de cana-de-açúcar, adubadas com N, em diferentes estádios de crescimento da cultura.

Material e Métodos

Conduziu-se um experimento em campo na Estação Experimental de Cana-de-açúcar de Carpina (EECAC), no município de Carpina – PE, com coordenadas geográficas 7°51'04'' S e 35°14'27'' W, em um ARGISSOLO VERMELHO AMARELO distrocoeso, de março de 2013 a março de 2014. O município tem altitude de 184 m, com clima predominante As', tropical chuvoso com verão seco, de acordo com o sistema Köppen e temperatura média anual de 24,2 °C (BELTÃO et al., 2005). A precipitação pluvial ocorrida durante o experimento foi de 1.359 mm (Figura 1).

Adicionalmente, nos dois primeiros meses após o plantio, foi realizada a aplicação de três lâminas de 25 mm de água.

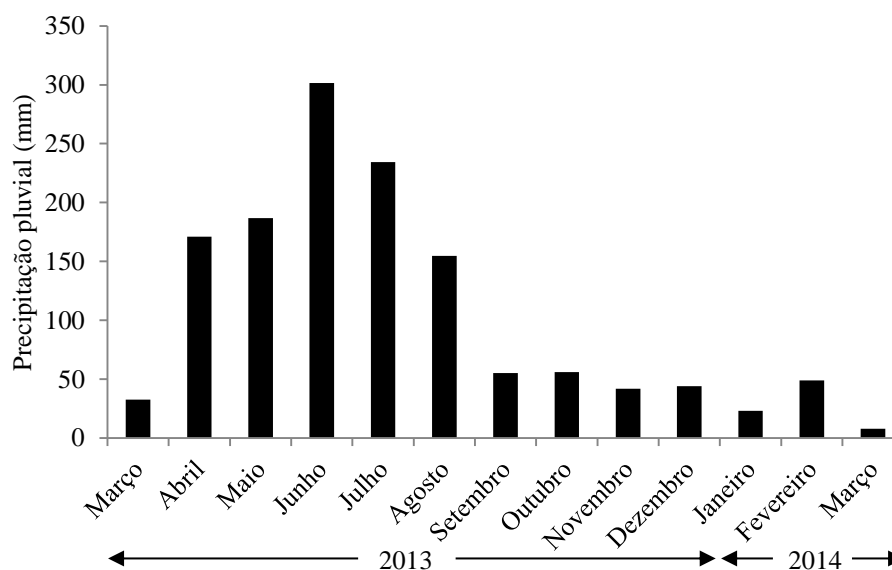


Figura 1. Precipitação pluviométrica durante o ensaio na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, em Carpina – PE.

A caracterização química e física do solo foi realizada em duas profundidades, 0,0 a 0,2 e 0,2 a 0,4 m (Tabela 1), em amostras compostas oriundas da coleta de 15 amostras simples coletadas aleatoriamente. Para caracterização química se determinou o pH (H₂O), Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺, Al³⁺, (H+Al), P, P-rem (P remanescente), Fe, Cu, Zn, Mn, Mo, NH₄⁺, NO₃⁻, δ¹⁵N (abundância natural de ¹⁵N) e COT (carbono orgânico total). O Ca²⁺, Mg²⁺ e Al³⁺ foram extraídos com KCl 1,0 mol L⁻¹ e dosados por titulometria. O P, K⁺, Na⁺, Fe, Cu, Zn, Mn, e Mo foram extraídos com Mehlich-1, sendo o P e o Mo dosados por espectrofotometria, o K⁺ e Na⁺ por fotometria de chama e o Fe, Cu, Zn e Mn por espectrofotometria de absorção atômica. A acidez potencial (H+Al) foi extraída com acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹ e dosada por titulometria. O COT foi determinado por combustão úmida com dicromato de potássio e dosado por titulometria. Todas as análises foram realizadas conforme metodologias descritas pela EMBRAPA (2009).

Com os resultados destas análises químicas, calculou-se a saturação por bases (V), a saturação por Al (m), a capacidade de troca de cátions efetiva (CTC_{efetiva}) e a capacidade de troca de cátions potencial (CTC_{potencial}).

O P-rem foi determinado por espectrofotometria, em extrato obtido após a amostra de solo ficar em equilíbrio com solução de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ contendo 60 mg L⁻¹ de P, de acordo com Alvarez V. et al. (2000). O NH₄⁺ e o NO₃⁻ foram extraídos com

KCl 1,0 mol L⁻¹ e dosados por destilação por arraste de vapores pelo método de Kjeldahl, conforme Tedesco et al. (1995). O ¹⁵N foi determinado por espectrometria de massa, sendo posteriormente calculado o $\delta^{15}\text{N}$, conforme metodologia descrita por Shearer & Kohl (1986).

Fisicamente o solo foi caracterizado pela granulometria, definindo sua classe textural; densidade do solo; densidade das partículas; umidades na capacidade de campo (Θ_{CC}) e no ponto de murcha permanente (Θ_{PMP}); condutividade hidráulica do solo saturado (K_0); e indiretamente, a porosidade total. Todas as análises físicas foram realizadas de acordo com a metodologia proposta pela EMBRAPA (1997).

Foram utilizadas as variedades de cana-de-açúcar RB92579 e RB867515, por serem muito cultivadas no Nordeste e no Brasil, respectivamente (CHAPOLA et al., 2012). O cultivo da cana foi submetido a duas doses de N (0 e 60 kg ha⁻¹) e duas doses de Mo (0 e 200 g ha⁻¹), baseadas no estudo da interação da adubação nitrogenada e molíbdica em cana-de-açúcar desenvolvido por Oliveira (2012), sendo utilizados como fonte de N a ureia e como fonte de Mo o molibdato de sódio. Os fertilizantes foram aplicados em fundação, durante o plantio da cana-de-açúcar. O molibdato de sódio foi diluído em água e aplicado com o auxílio de pulverizador costal.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, em arranjo fatorial de tratamentos (2 x 2 x 2), em medidas repetidas no tempo, com quatro repetições, totalizando 32 unidades experimentais. Cada parcela foi composta por sete sulcos de 10 m de comprimento, espaçados por um metro, totalizando 70 m². A área útil foi formada pelos cinco sulcos centrais, descartando-se um metro das extremidades, totalizando 40 m². Os dois sulcos localizados nas extremidades da área útil foram utilizados para realização das amostragens destrutivas e os três sulcos centrais para as amostragens não destrutivas.

O experimento foi instalado 40 dias após a aplicação à lanço de 2,2 Mg ha⁻¹ de calcário dolomítico (PRNT de 100%) em área total e incorporado até 0,2 m de profundidade. A necessidade de calagem foi calculada pelo método da saturação por bases (RIBEIRO et al., 1999), estimando uma elevação da saturação para 60%. A adubação foi realizada em fundação com a aplicação de P e K em todas as parcelas. A adubação fosfatada foi realizada considerando o teor de P disponível e a textura do solo de acordo com Simões Neto et al. (2011), sendo aplicados 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅ como superfosfato triplo (40% de P₂O₅). Para o K, a recomendação foi feita com base na expectativa de produção, estimando-se produtividades acima de 100 t ha⁻¹, para tal foi

utilizado um valor médio de eficiência de K₂O de 1,4 kg t⁻¹ de cana (OLIVEIRA et al., 2010), sendo aplicados 140 kg ha⁻¹ de K₂O, como cloreto de potássio (60% de K₂O).

Tabela 1. Atributos químicos e físicos do solo em diferentes profundidades na área do ensaio de campo na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, em Carpina – PE

Atributo	Profundidade (m)	
	0,0 – 0,2	0,2 – 0,4
pH _{água} (1:2,5)	5,2	4,8
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	2,10	1,80
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,50	0,60
K ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,15	0,06
Na ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,04	0,07
Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,50	0,70
(H + Al) (cmol _c dm ⁻³)	5,50	7,50
P (mg dm ⁻³)	19,00	4,00
Fe (mg dm ⁻³)	55,40	41,20
Cu (mg dm ⁻³)	0,10	0,30
Zn (mg dm ⁻³)	2,50	2,40
Mn (mg dm ⁻³)	6,60	5,00
Mo (mg dm ⁻³)	0,14	0,15
COT (g kg ⁻¹) ¹	1,19	1,25
P-rem (mg L ⁻¹) ²	39,57	30,02
NO ₃ ⁻ (mg dm ⁻³)	56,14	65,22
NH ₄ ⁺ (mg dm ⁻³)	20,02	20,64
δ ¹⁵ N (‰) ³	4,72	5,09
CTC _{efetiva} (cmol _c dm ⁻³) ⁴	3,29	3,23
CTC _{potencial} (cmol _c dm ⁻³) ⁵	8,29	10,03
V (%) ⁶	33,66	25,22
m (%) ⁷	15,20	21,67
Areia Total (g kg ⁻¹)	723,00	681,00
Areia Grossa (g kg ⁻¹)	509,80	481,20
Areia Fina (g kg ⁻¹)	213,6	199,40
Silte (g kg ⁻¹)	117,00	80,00
Argila (g kg ⁻¹)	160,00	239,00
Classe Textural	Franco-arenosa	Franco-argilo-arenosa
Ds (kg dm ⁻³) ⁸	1,46	1,41
Dp (kg dm ⁻³) ⁹	2,56	2,47
PT (%) ¹⁰	43,21	42,79
Θ _{CC} (Mg Mg ⁻¹) ¹¹	0,12	0,13
Θ _{PMP} (Mg Mg ⁻¹) ¹²	0,06	0,08

¹Carbono orgânico total; ²Fósforo remanescente; ³Abundância natural de ¹⁵N; ⁴Capacidade de troca de cátions efetiva; ⁵Capacidade de troca de cátions potencial; ⁶Saturação por bases; ⁷Saturação por alumínio; ⁸Densidade do solo; ⁹Densidade de partículas; ¹⁰Porosidade total; ¹¹Umidade na capacidade de campo; ¹²Umidade no ponto de murcha permanente.

O plantio das variedades de cana-de-açúcar foi realizado em sulcos de aproximadamente 0,2 m de profundidade, onde foram distribuídos 14 Mg ha⁻¹ de colmos com sete meses de idade, dispostos em corrente dupla, de modo que a ponta de

um coincide com a base do outro. Posteriormente, os colmos foram seccionados em toletes, havendo uma densidade de 14 gemas por metro, e se procedeu a aplicação dos fertilizantes e fechamento do sulco.

Nas laterais dos blocos do ensaio foram distribuídas oito parcelas de área 50% inferior que as parcelas da cana, visando o crescimento de ervas espontâneas, a fim de utilizá-las como referência na estimativa da FBN pelo método da abundância natural de ^{15}N (SHEARER & KOHL, 1986). A metade destas parcelas também recebeu 60 kg ha^{-1} de N, semelhante ao tratamento com adição de N utilizado na cana-de-açúcar. Portanto, as plantas referência cresceram nas mesmas condições de disponibilidade de N que as canas.

Aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP) foram coletadas aleatoriamente três folhas +1 e uma porção de raiz de três touceiras de cana por parcela para determinação da AN. A atividade da enzima foi determinada indiretamente pela redução do acetileno, adaptando-se a metodologia descrita por Hardy et al. (1968). As amostras de raiz e folha foram colocadas, separadamente, em frascos de vidro de 900 mL, que foram hermeticamente fechados. Em seguida, para não alterar a pressão interna dos frascos de vidro, retirou-se 90 mL de ar e introduziu-se 90 mL de acetileno, deixando-os incubados por uma hora. Após este período, foi coletado 9 mL da atmosfera dos recipientes para ser armazenado em vacuneteiner de mesmo volume. A determinação da redução do acetileno e produção de etileno foi realizada em cromatógrafo a gás com coluna PORAPAK N empacotada, detector de ionização de chama, com temperaturas de forno, de injetor e de detector de, respectivamente, 70; 130; e 150 °C e vazões de N_2 (gás de arraste), H_2 e O_2 de, respectivamente 30; 30; e 300 mL min^{-1} .

A estimativa da AN foi calculada de acordo com Boddey et al. (2007), pela equação:

$$\text{AN} = \frac{(E_2 - E_1) \cdot V \cdot K_E}{244,50 \cdot S_E \cdot t \cdot m}$$

Onde:

AN = atividade da nitrogenase ($\text{mmol de C}_2\text{H}_4 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$);

E_1 = área do pico de etileno na amostra inicial;

E_2 = área do pico de etileno na amostra final;

V = volume do frasco (mL);

K_E = concentração do pico de etileno no padrão (mg L^{-1});

S_E = área do pico de etileno no padrão;

t = tempo de incubação (h);

m = massa do tecido vegetal (g).

Nos mesmos tecidos foliares das plantas coletados para quantificar a AN, com exceção da coleta realizada aos 70 DAP, foi também determinada razão $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ para estimação do valor de $\delta^{15}\text{N}$. Portanto, as folhas coletadas aos 100, 130, 200 e 365 DAP foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C, trituradas em moinho de facas e tamisadas em peneira de 100 mesh para determinação, em espectrômetro de massa, do teor de ^{15}N e estimação do $\delta^{15}\text{N}$. Concomitantemente, foram coletadas a parte aérea das plantas espontâneas de referência para determinação do $\delta^{15}\text{N}$.

Com os valores de $\delta^{15}\text{N}$ das folhas de cana e das plantas de referência foi estimada a percentagem de N proveniente da FBN pelo método da abundância natural de ^{15}N , segundo a equação proposta por Shearer & Kohl (1986):

$$\%N_{dfa} = 100 \cdot \frac{(\delta^{15}N_{ref} - \delta^{15}N_{fix})}{\delta^{15}N_{ref}}$$

Onde:

$\%N_{dfa}$ = estimativa da porcentagem de N proveniente da FBN na cana-de-açúcar;

$\delta^{15}N_{ref}$ = estimativa da abundância natural de ^{15}N na planta de referência;

$\delta^{15}N_{fix}$ = estimativa da abundância natural de ^{15}N na cana-de-açúcar;

A AN, os valores de $\delta^{15}\text{N}$ e a estimativa da percentagem de N proveniente da FBN foram avaliados considerando-se as variedades de cana, a ausência e presença de Mo e a ausência e presença de N em diferentes estádios de crescimento da cultura, como medidas repetidas no tempo. Para isso foi utilizado o pacote estatístico SAS Learning 2.0, seguindo o procedimento para modelo misto, sendo selecionado o teste de covariância [AR(1), Ante (1), ARH (1), ARMA (1), CS, CSH, HF, TOEP, Lin (1), UN] que apresentou o menor valor do critério de Akaike (WOLFINGER & CHANG, 1995). Nas variáveis em que se observou efeito significativo ($p < 0,05$) foi realizada análise de regressão em função do tempo.

Para avaliar o efeito do Mo na percentagem do N proveniente da FBN, utilizou-se como referência a própria variedade de cana que não recebeu Mo, obtendo-se assim o percentual do N fixado, nos tratamentos que receberam adubação molíbdica.

Resultados e discussão

Os dados da AN na folha +1 e nas raízes das variedades RB867515 e RB92579 durante o ciclo de cana planta se ajustaram ao modelo de sino, sendo possível identificar o período de máxima atividade da enzima (Figuras 2 e 3). De maneira geral, a AN aumentou nos primeiros meses de cultivo da cana atingindo o máximo em torno de 100 DAP, e em seguida iniciou um período de declínio, sendo nula a partir dos 200 DAP, tanto na parte aérea, como nas raízes.

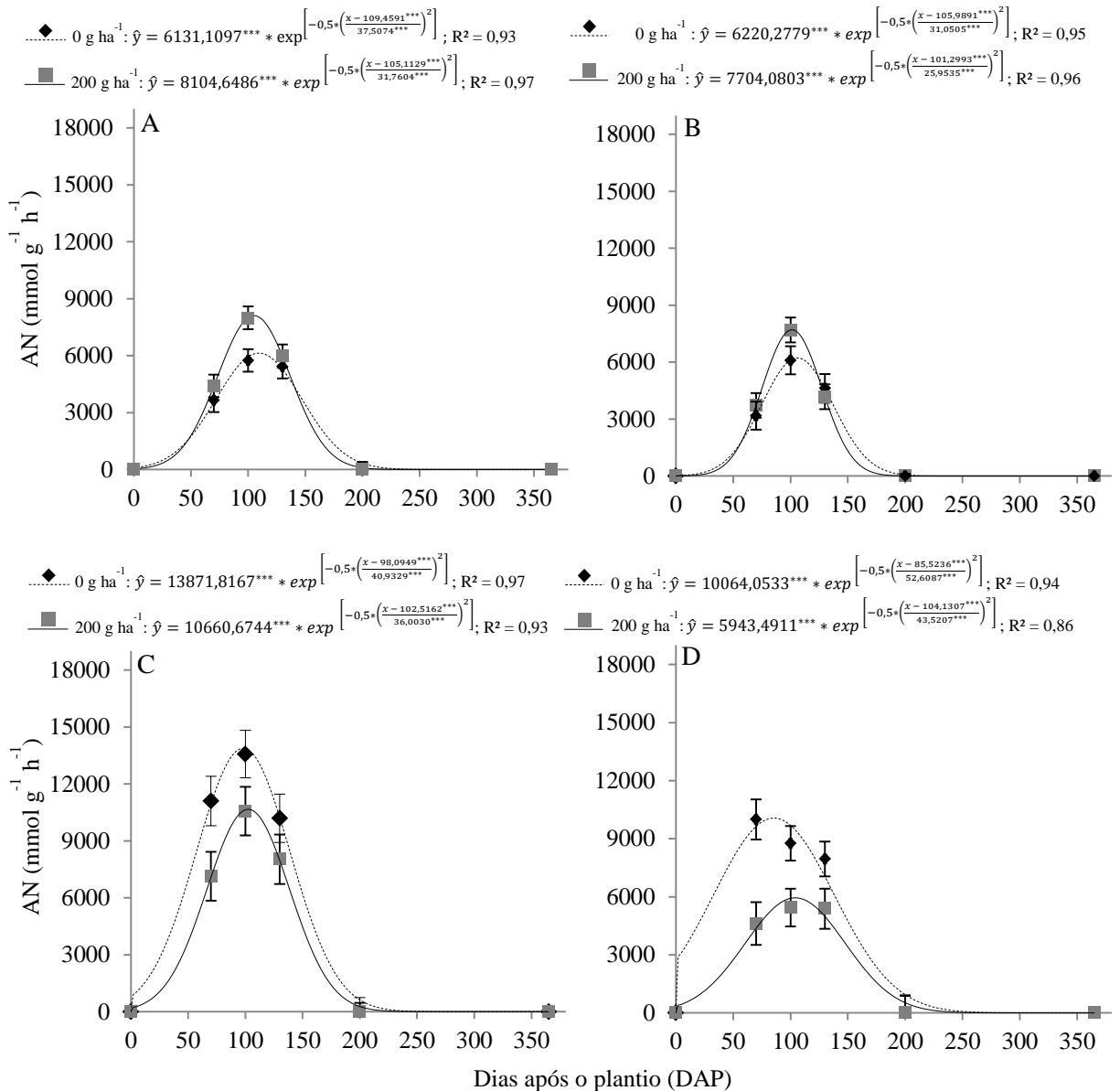


Figura 2. Atividade da nitrogenase (AN) na folha +1 de cana-de-açúcar na ausência e presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP).

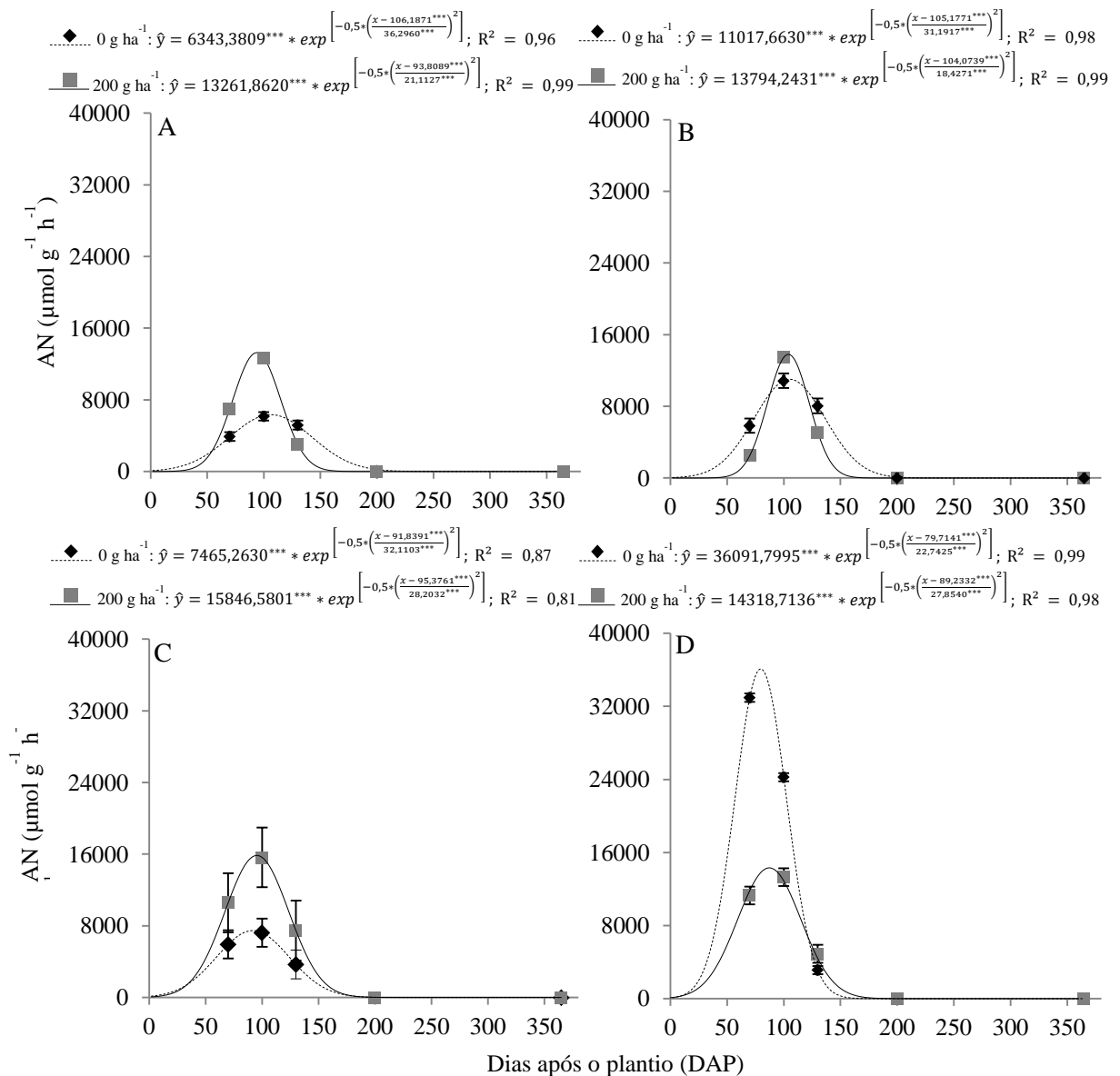


Figura 3. Atividade da nitrogenase (AN) nas raízes de cana-de-açúcar na ausência e presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP).

No início do ciclo, a cana-de-açúcar necessita de N para o seu perfilhamento e desenvolvimento, absorvendo o nutriente até próximo aos 200 DAP (JADOSKI et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2011a). Esse comportamento corrobora os resultados da AN, que se elevou no início do ciclo e foi nula quando, provavelmente, as plantas atingiram o máximo acúmulo de N, ou seja, haviam absorvido todo o N para completar seu ciclo.

Tanto na ausência quanto na presença da adubação nitrogenada, a aplicação de 200 g ha⁻¹ de Mo elevou a AN na folha +1 da RB867515 (Figura 2). No entanto, o

maior incremento na AN proporcionado pela presença de Mo ocorreu quando não se adubou com N e, correspondeu a 32% em relação a ausência de Mo. Com a aplicação de N, o Mo só foi responsável por um incremento de 24%, ou seja, há uma queda da contribuição do Mo na AN, na presença de N. Por outro lado, independente da presença ou ausência de N, a aplicação de Mo antecipou a máxima AN em quatro dias (Figura 2).

Como o Mo é constituinte da enzima nitrogenase, a sua suplementação no sulco de plantio, seguida de sua absorção e translocação para as folhas (Tabela 2, do Capítulo I) elevou a atividade da enzima. Como esse comportamento se repetiu quando se adubou com N, porém numa escala menor, levanta-se a hipótese que a dose de 60 kg ha⁻¹ de N não tenha sido suficiente para a nutrição da cultura, uma vez que em oferta adequada de N, a cana não forneceria ou reduziria o suprimento dos produtos da fotossíntese para as bactérias e a FBN seria reduzida ou nula (SALVAGIOTTI et al., 2008), indicada pela AN.

Li-Ping et al. (2007) avaliaram o comportamento da AN em duas variedades de cana (RB72454 e RB867575) sob o efeito de quatro doses de Mo (0; 0,01; 0,02 e 0,04 mg L⁻¹), na ausência e presença de N. Segundo os autores, sob adubação nitrogenada as doses de Mo promoveram aumento da AN nas raízes e no colmo das duas variedades, porém nas folhas isto só ocorreu na RB72454. Na ausência de N, as doses de Mo elevaram a AN nas folhas e no colmo da variedade RB867575, mas reduziram a atividade da enzima nas folhas, colmo e raízes na RB72454, o que evidencia a diferença de comportamento entre variedades, indicando a necessidade de estudos para cada genótipo, com o objetivo de entender suas especificidades.

O comportamento da AN na folha +1 da RB92579 foi diferente do observado na RB867515, pois a aplicação de Mo reduziu a atividade da enzima, independentemente da adubação nitrogenada (Figura 2). As reduções na máxima AN com a aplicação do Mo foi de 5 e 40% respectivamente, na ausência e presença da adubação nitrogenada. Em solos não fertilizados com N e aerados há predomínio de nitrato, principalmente nos primeiros meses de cultivo. Como a cana necessita de Mo para a assimilação dessa forma de N (SUN et al., 2012), a sua suplementação potencializou a atividade da redutase do nitrato (ARN), principalmente quando não se adubou com N (Figura 2, do Capítulo I), aumentando o consumo de nitrato pelo genótipo e desta forma, reduzido a AN.

De modo particular, a maior redução da AN quando se adubou com N permite sugerir que além do aumento da assimilação do nitrato promovido pelo Mo (Figura 2, do Capítulo I), possivelmente, a RB92579 absorveu mais amônio pela sua maior

disponibilidade no solo, proporcionada pela ureia, como sugerido no Capítulo I, reduzindo a FBN. Incremento no teor de amônio no solo pela aplicação de ureia foi constatado por Gargantini & Catani (1957). Os autores observaram que 10 dias após a aplicação, 77 e 9% da ureia haviam se convertido a amônio e nitrato, respectivamente; aos 40 dias já representavam, respectivamente 80 e 20%. Adicionalmente, Lorensini et al. (2014) constataram que os maiores níveis de amônio no solo ocorreram após a aplicação da ureia, no tempo zero e aos 38 dias após a incubação, sendo reduzido posteriormente.

Genericamente, a AN foi maior quando não se aplicou o N (Figura 2), corroborando a hipótese de que a adubação nitrogenada reduz a FBN (SALVAGIOTTI et al., 2008). A AN é reduzida quando há grande disponibilidade de N inorgânico no solo, como mecanismo de regulação de energia por parte dos vegetais. Como a redução do N_2 a NH_3 implica em gasto energético para a planta, se houver N disponível suficiente para a nutrição da cultura, a hospedeira não irá ou reduzirá o fornecimento de compostos fotossimilados para as bactérias. Isto fica evidenciado no trabalho realizado por Day et al. (1975), que observaram que até sete horas após a aplicação de fertilizante nitrogenado, a AN em raízes de *Paspalum notatum* foi reduzida, e após 24 h a atividade da enzima retornou a valores próximos aos apresentados por plantas com o suprimento contínuo do nutriente. Os autores constataram ainda que a *Brachiaria decumbens* e o *Pennisetum purpureum* apresentaram AN reduzida duas semanas após a aplicação de 20 kg ha^{-1} de N, ao comparar com os valores de plantas que não receberam o nutriente.

Observou-se ainda que a AN na folha +1 da RB92579 foi maior que na RB867515 (Figura 2), indicando que a RB92579 têm associação mais eficiente com bactérias fixadoras de N que a RB867515, sugerindo que a FBN seja variável e dependa da relação bactéria-hospedeiro. Em estudo realizado em três solos de atributos químicos e físicos contrastantes, Oliveira et al. (2006) observaram que a inoculação de bactérias nas variedades de cana-de-açúcar SP701143 e SP813250 com estirpes selecionadas pela Embrapa, resultou no incremento da FBN, representando até 42% do N absorvido pela cultura. Entretanto, para o mesmo genótipo houve redução de 20% na FBN pela adição de duas estirpes bacterianas, quando se comparou com a inoculação de três estirpes.

De maneira geral, a AN nas raízes das variedades foi superior à observada na folha +1, com diferença, em média, de 71 e 190% respectivamente, na RB867515 e RB92579, quando receberam a suplementação de Mo (Figuras 2 e 3). Este comportamento, provavelmente, foi devido a maior população e diversidade bacteriana, inclusive de bactérias fixadoras de N, nas raízes em relação às folhas, como

comprovado por Silva et al. (2012). Estes autores observaram que o número de isolados fixadores de N nas folhas da RB867515 representou 46% do número encontrado nas raízes e rizoplano, enquanto que na RB92579 esse número foi de apenas 20%, no ciclo de cana planta.

A máxima AN nas raízes da RB867515 foi potencializada pela aplicação de Mo, independentemente da adubação nitrogenada (Figura 3). Entretanto, o efeito do Mo na AN foi mais pronunciado quando não se aplicou o N, tendo aumentado em 100% a máxima atividade da enzima e antecipado o seu pico em 12 dias. Com a aplicação de N, o incremento da máxima AN foi de 25%. Como se tem sugerido, a potencialização da AN pela adubação molíbdica pode ser atribuída ao seu papel como ativador enzimático (LI-PING et al., 2007; HERNANDEZ et al., 2008). Contudo, o aumento da máxima AN foi mais intenso com a menor disponibilidade de N no solo. É comum se observar redução da AN com a adubação nitrogenada, todavia, é possível que o N aplicado ao solo tenha favorecido as populações de bactérias fixadoras de N, aumentando a máxima AN.

O Mo potencializou a AN nas raízes da RB92579 apenas quando não se aplicou o fertilizante nitrogenado, sendo este aumento de 110% no pico da atividade durante o ciclo da cultura (Figura 3). De modo inverso, com a aplicação de 60 kg ha⁻¹ de N a AN foi maior quando não se aplicou o Mo, sendo a máxima atividade 150% maior e antecipada em 10 dias. Esse fato reforça a hipótese de que a fertilização nitrogenada favoreceu as populações de bactérias fixadoras de N, elevando o processo de FBN.

De maneira particular, a RB92579 parece ter uma relação associativa com bactérias fixadoras de N mais eficiente que a RB867515, pelos maiores valores da AN, ou seja, a capacidade de realizar FBN varia com o hospedeiro e a diversidade bacteriana (OLIVEIRA et al., 2006). Isto pode ser apoiado pela diferença entre os picos da AN das variedades quando foi aplicado N, em que a atividade na RB867515 representou 30% da observada na RB92579.

Silva et al. (2012) coletaram amostras de folha, raiz e rizoplano das variedades RB867515 e RB92579 aos quatro meses após o plantio, e avaliaram os isolados bacterianos encontrados nos tecidos e no solo. De acordo com os autores, em ambas as variedades foram identificados isolados fixadores de N, entretanto, na RB92579 o número desses isolados foi 15% superior aos observados na RB867515.

Os dados de $\delta^{15}\text{N}$ na folha +1 das variedades RB867515 e RB92579 no ciclo de cana planta se ajustaram a modelo quadrático, com exceção dos dados de $\delta^{15}\text{N}$ da RB867515 na presença de N e Mo, que não se ajustaram a nenhum modelo. A

distribuição dos dados desta variedade foi como se o $\delta^{15}\text{N}$ não tivesse variado com o tempo (Figura 4). De maneira geral, o $\delta^{15}\text{N}$ se reduziu ao longo do ciclo da cultura, o que pode ter ocorrido devido a absorção de N de uma fonte com baixa razão $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, como a atmosfera, reforçando os resultados da AN (Figura 2), indicando que ambos os genótipos de cana apresentaram associação com bactérias fixadoras de N.

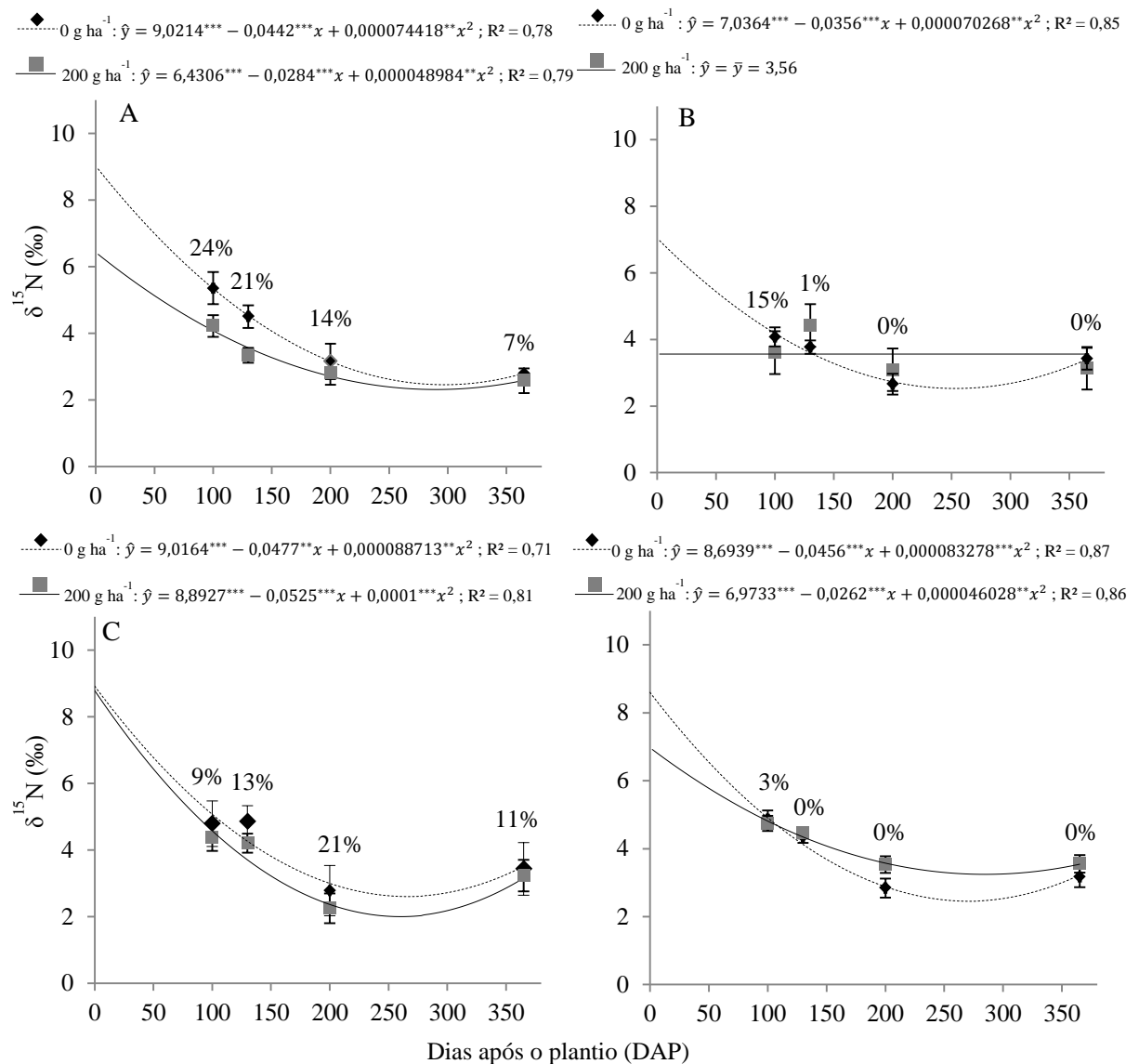


Figura 4. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ na folha +1 de cana-de-açúcar na ausência e presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP).

Em média, o valor de $\delta^{15}\text{N}$ na RB867515 e RB92579 foi respectivamente de, 2,71‰ e 2,57‰, o que permite sugerir que a RB92579 foi mais fixadora de N_2 atmosférico do que a B867515 (Figura 4). Esta afirmação é reforçada pelo comportamento da AN na folha +1 e nas raízes, que foi maior na RB92579.

Tanto na RB867515 quanto na RB92579, a aplicação de Mo reduziu os valores de $\delta^{15}\text{N}$ na ausência da adubação nitrogenada (Figura 4). Possivelmente, a aplicação de Mo aumentou a FBN, como sugerido pela AN na folha +1 e nas raízes da RB867515 e nas raízes da RB92579 (Figuras 2 e 3), incorporando N ao tecido vegetal com baixa abundância de ^{15}N , o que reduziu os valores de $\delta^{15}\text{N}$, quando houve baixa disponibilidade de N no solo. As reduções nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ pela adubação mólfbdica foram evidentes até 200 DAP, principalmente na variedade RB867515 e foram semelhantes no final do ciclo da cultura (Figura 4).

Provavelmente processos de redistribuição de N na cana e suas perdas para o sistema solo-atmosfera sejam diferentes para os isótopos de N, reduzindo os níveis de ^{14}N e concentrando ^{15}N . Talvez esse comportamento seja o motivo pelo qual não se tem mostrado concisa e definitivamente a existência de FBN em cana-de-açúcar, porque o $\delta^{15}\text{N}$ dos trabalhos realizados é aferido apenas no final do ciclo da cultura, no período da colheita.

Schultz et al. (2014) avaliaram o efeito da inoculação com cinco estirpes bacterianas sobre o $\delta^{15}\text{N}$ nas variedades RB867515 e RB72454. Segundo os autores, no ciclo de cana planta, não houve diferença entre os valores de $\delta^{15}\text{N}$ pela inoculação com as bactérias, o que seria um indicativo da ausência de FBN. No entanto, a coleta da folha para avaliação do $\delta^{15}\text{N}$ ocorreu no final do ciclo da cultura, por ocasião da colheita, podendo ter ocorrido perda do ^{14}N nos tecidos da cana e enriquecimento de ^{15}N .

A não observância da redução dos valores de $\delta^{15}\text{N}$ pela aplicação de Mo quando se adubou com N, possivelmente, se deve a redução da FBN por ambas as variedades pela maior disponibilidade de N no solo (LORENSINI et al., 2014). Este comportamento corrobora os resultados da AN (Figura 2).

Ao se avaliar a potencialização da FBN pela aplicação de Mo, tomando-se a própria variedade na ausência de Mo como sua referência, se constata que os valores decresceram ao longo do ciclo da cana planta (Figura 4). As maiores contribuições do N derivado da atmosfera pela adubação mólfbdica para as plantas aconteceram quando não se aplicou N, terminando o ciclo com a FBN potencializada em 7 e 11%, respectivamente na RB867515 e RB92579. Apesar destas estimativas não indicarem o

percentual do N absorvido pela cana derivado da atmosfera, comprovaram que houve FBN nestas variedades.

Mesmo com o menor $\delta^{15}\text{N}$ ocorrido no ciclo da cultura, foi possível identificar a ocorrência da FBN nas variedades de cana não adubadas com N. Na RB867515, os mínimos valores de $\delta^{15}\text{N}$ na ausência da adubação nitrogenada diferiram em 0,15‰, sendo menor com a aplicação de Mo, ambos ocorreram entre 295 e 300 DAP. De acordo com a técnica da abundância natural ^{15}N , essa pequena diferença em $\delta^{15}\text{N}$, sugere que o Mo incrementou a FBN em 6%. Entretanto, com a adubação nitrogenada o Mo não potencializou a FBN, pois o $\delta^{15}\text{N}$ foi menor na ausência da adubação mólíbdica. Quando a RB92579 não foi adubada com N, o $\delta^{15}\text{N}$ mínimo ocorreu, em média aos 267 DAP, com antecipação de seis dias pela aplicação de Mo, que também se reduziu em 23%. Nesta ocasião, o Mo potencializou a FBN em 23%. Com a aplicação de N o menor valor de $\delta^{15}\text{N}$ ocorreu, em média, 13 dias mais tarde, sendo maior com a adubação mólíbdica, ou seja, a FBN não foi estimulada pelo Mo.

A planta referência utilizada para estimativa da FBN pelo método da abundância natural foi a erva espontânea *Dactyloctenium aegyptium*, conhecida vulgarmente como capim mão-de-sapo. Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ na planta referência reduziram-se ao longo do ciclo da cana-de-açúcar (Tabela 2) e foram menores que os estimados nas variedades de cana, o que impossibilitou a estimativa da FBN por este método.

Tabela 2. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ em *Dactyloctenium aegyptium* na ausência e presença de nitrogênio em diferentes tempos de crescimento da planta

DAP	N (kg ha ⁻¹)	
	0	60
	----- % -----	
100	7,59	6,79
130	4,00	3,61
200	4,11	3,43
365	2,42	2,47

Problemas relacionados a planta referência na estimativa da FBN foram apontados por Hogberg (1997). Segundo o autor existem diferenças entre a planta na qual se deseja conhecer o potencial de FBN e a planta utilizada como referência, que podem tornar a estimativa incoerente, pois, normalmente, possuem ciclos distintos, apresentam sistemas radiculares diferentes, explorando profundidades diferentes do solo e podem apresentar diferença temporal na absorção de N.

No entanto, aos 100 DAP, os níveis de $\delta^{15}\text{N}$ na planta referência mais altos e neste mesmo período, as variedades de cana-de-açúcar apresentaram a máxima AN, tanto na folha +1, como nas raízes (Figuras 2 e 3), assim fez-se o uso do método da abundância natural de ^{15}N para estimar a FBN.

Tabela 3. Estimativa da percentagem do N derivado da atmosfera em diferentes variedades de cana-de-açúcar, submetidas a adubação nitrogenada e molíbdica aos 100 dias após o plantio (DAP), análise da variância e coeficiente de variação dos dados

Fator	N (kg ha ⁻¹)		Média
	0	60	
Variedade	----- % -----		
RB867515	37,12 Ba	43,22 Aa	40,17
RB92579	39,61 Aa	29,28 Bb	34,45
Média	38,37	36,25	
Mo (g ha ⁻¹)			
0		33,66 B	
200		40,96 A	
Média		37,31	
		F	
Variedade		8,30 **	
Mo		13,52 **	
N		1,10 ^{ns}	
Mo*N		1,77 ^{ns}	
Var*Mo		3,59 ^{ns}	
Var*N		16,83 ***	
Var*Mo*N		0,19 ^{ns}	
CV (%)		15,0	

Letras minúsculas iguais na linha e maiúsculas na coluna não diferem pelo teste de Tukey; ^{ns} não significativo; *, **, *** significativos, respectivamente, aos níveis de 5%, 1% e 0,1%, de probabilidade.

De acordo com as estimativas da FBN, cerca de 37% do N absorvido pelos genótipos de cana tiveram a atmosfera como origem (Tabela 3). Utilizando o método da abundância natural de ^{15}N , Boddey et al. (2003) estimaram a FBN em 11 diferentes canaviais, distribuídos nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Pernambuco. Os autores estimaram a FBN tomando como plantas referência as ervas espontâneas locais, e observaram valores que variaram de -12,3 a 71,9%, tendo como média 33%. Usando a mesma técnica, Taulé et al. (2011) observaram que a contribuição

do N atmosférico para cana-de-açúcar, aos 120 DAP, variou de 42 a 59% de acordo com o cultivar e a espécie utilizada como planta referência. Os autores ainda relataram que a FBN se reduziu em 15% com o aumento da dose de N. O experimento foi realizado em casa de vegetação no Uruguai com variedades nacionais, em solo enriquecido com o isótopo ^{15}N e conduzido até 120 DAP.

Assis et al. (2002) estimaram a contribuição da FBN em cana-de-açúcar pelas técnicas da abundância natural e da diluição isotópica de ^{15}N . Segundo os autores, utilizando a técnica da abundância natural, aos seis meses após o plantio, em vasos contendo solo, 32% do N absorvido pela cultura foi oriundo da atmosfera. Corroborando a indicação da existência da FBN, os autores cultivaram a cana em solução nutritiva e observaram aos cinco meses após o cultivo, pela técnica da diluição isotópica, que houve FBN, porque cerca de 26, 41, e 21% do N contido, respectivamente nas raízes, colmos e folhas, tiveram a atmosfera como origem.

A contribuição da FBN no N absorvido pela cana aos 100 DAP variou pelo efeito sinérgico das variedades, das doses de N e da adubação molíbdica (Tabela 3). Quando se avaliou o efeito da aplicação de N na contribuição da FBN nas variedades de cana, se observou que esta contribuição na RB92579 foi reduzida em 26% pela adubação nitrogenada, e não variou na RB867515. Esse comportamento corrobora os resultados da AN, principalmente na folha +1, onde a adubação nitrogenada reduziu efetivamente a AN na RB92579 (Figura 2).

Quando se comparou os genótipos de cana na presença e ausência de N, se constatou que na ausência da adubação, a contribuição da FBN foi maior na RB92579, chegando a cerca de 40% do N absorvido pela variedade (Tabela 3). Comportamento inverso apresentou a RB867515, que na presença de N, apresentou maior FBN, contribuindo com mais de 43% do N absorvido pela variedade. Estes resultados sugerem que os genótipos de cana apresentaram diferentes associações com bactérias fixadoras de N, levando a absorção de distintas quantidades de N que têm como origem a atmosfera, e que responderam de maneira particular à adubação nitrogenada.

Ao isolar bactérias associadas à cana-de-açúcar aos quatro meses de idade no ciclo de cana planta, Silva et al. (2012) quantificaram quantidades diferentes de isolados nos genótipos avaliados. Segundo os autores nas variedades RB92579, RB867515 e RB863129 foram obtidos 14; 12; e 17 isolados, respectivamente extraídos das folhas, raízes e rizoplano.

A adubação molíbdica elevou em 22% a contribuição da FBN nos genótipos de cana, independente da variedade e da aplicação de N (Tabela 3). Este comportamento

corroborar os resultados encontrados para a AN na RB867515 (Figuras 2 e 3), nos quais se observaram aumento da atividade da enzima na presença de Mo. Entretanto, mesmo a AN não indicando na RB92579 aumento da FBN com a aplicação de Mo, exceto nas raízes na ausência da adubação nitrogenada, a avaliação da abundância natural de ¹⁵N sinalizou com a potencialização da fixação pela adubação molíbdica. Deste modo, atuando efetivamente como co-fator da enzima nitrogenase, o Mo potencializou a contribuição da FBN na absorção de N pela cana-de-açúcar.

Conclusões

A AN foi máxima por cerca de 100 DAP, sendo maior na variedade RB92579, tanto na folha +1, como nas raízes;

A adubação com Mo potencializou a AN na variedade RB867515 e reduziu na RB92579;

As variedades de cana-de-açúcar RB867515 e RB92579 fixaram N, que foi potencializada pela adubação molíbdica, principalmente, na ausência de N.

Referências bibliográficas

- ALVAREZ, V. V. H.; NOVAIS, R. F.; DIAS, L. E.; OLIVEIRA, J. A. **Determinação e uso do fosforo remanescente**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. p. 27-33. (Boletim Informativo, 25).
- ASSIS, C. A. et al. Estimation of the nitrogen fixation by sugarcane cultivar NiF-8 using N dilution and natural abundance techniques Estimation of the Nitrogen Fixation by Sugarcane Cultivar NiF-8 Using ¹⁵N Dilution and Natural ¹⁵N Abundance Techniques. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 48, n. 2, p. 283–285, 2002.
- BAPTISTA, R. B. et al. Variations in the ¹⁵N natural abundance of plant-available N with soil depth: Their influence on estimates of contributions of biological N₂ fixation to sugar cane. **Applied Soil Ecology**, v. 73, p. 124–129, jan. 2014.
- BELTÃO, B. A. et al. **Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea - Estado de Pernambuco: Diagnóstico do município de Carpina**. [s.l.] CPRM - Serviço Geológico do Brasil, 2005. p. 11
- BODDEY, L. H. et al. **A Avaliação da Fixação Biológica de N₂ Associada a Leguminosas e Não-Leguminosas Utilizando a Técnica da Redução do Acetileno: História, Teoria e Prática** Seropédica - RJEmbrapa Agrobiologia, , 2007.
- BODDEY, R. M. et al. Endophytic nitrogen fixation in sugarcane: present knowledge and future applications. **Plant and Soil**, v. 252, n. 1, p. 139–149, maio 2003.

BOUWMAN, A. F.; DRECHT, G. VAN; HOEK, K. W. VAN DER. Surface N balances and reactive N loss to the environment from global intensive agricultural production systems for the period 1970 — 2030. **Science in China Series C Life Sciences**, v. 48, p. 1–13, 2005.

CHAPOLA ET AL., R. G. **Censo varietal 2012**. Araras: CCA-UFSCar, 2012. p. 55

DAY, J. M.; NEVES, M. C. P.; DOBEREINER, J. Nitrogenase activity on the roots of tropical forage grasses. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 7, p. 107–112, 1975.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa, 1997. p. 212

EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes** / editor técnico, Fábio Cesar da Silva. - 2. ed. rev. ampl. - Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 627 p., 2009.

FRANCO, H. C. J. et al. Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer under Brazilian field conditions. **Field Crops Research**, v. 121, n. 1, p. 29–41, fev. 2011.

GARGANTINI, H.; CATANI, R. A. **Determinação do período de tempo para amonificação e nitrificação de diversos fertilizantes nitrogenados** **Boletim Técnico** Campinas-SP Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo, 1957.

HARDY, R. W. et al. The acetylene-ethylene assay for n(2) fixation: laboratory and field evaluation. **Plant physiology**, v. 43, n. 8, p. 1185–207, ago. 1968.

HERNANDEZ, J. A et al. Metal trafficking for nitrogen fixation: NifQ donates molybdenum to NifEN/NifH for the biosynthesis of the nitrogenase FeMo-cofactor. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 33, p. 11679–84, 19 ago. 2008.

HERRIDGE, D. F.; PEOPLES, M. B.; BODDEY, R. M. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. **Plant and Soil**, v. 311, n. 1-2, p. 1–18, 11 jul. 2008.

HOGBERG, P. 15N natural abundance in soil-plant systems. **New Phytologist**, v. 137, p. 179–203, 1997.

JADOSKI, C. J. et al. Fisiologia do desenvolvimento do estágio vegetativo da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.). **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v. 3, n. 2, p. 169–176, 2010.

LI-PING, W.; YANG-RUI, L.; LI-TAO, Y. Effects of molybdenum on nitrogenase activity of nitrogen-fixing bacteria in sugarcane.pdf. **Plant Nutrition and Fertilizer Science**, v. 13, n. 1, p. 110–122, 2007.

- LORENSINI, F. et al. Disponibilidade de nitrogênio de fontes minerais e orgânicas aplicadas em um Argissolo cultivado com videira. **Revista Ceres**, v. 61, n. 2, p. 241–247, 2014.
- OLIVEIRA, A. L. M. et al. Yield of micropropagated sugarcane varieties in different soil types following inoculation with diazotrophic bacteria. **Plant and Soil**, v. 284, n. 1-2, p. 23–32, jun. 2006.
- OLIVEIRA, A. C. DE. **Interação da adubação nitrogenada e molíbdica em cana-de-açúcar**. [s.l.] Universidade Federal Rural de Pernambuco - Recife, 2012.
- OLIVEIRA, E. C. A. DE et al. Extração e exportação de nutrientes por variedades de cana-de-açúcar cultivadas sob irrigação plena. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 4, p. 1343–1352, 2010.
- OLIVEIRA, E. C. A. DE et al. Acúmulo e alocação de nutrientes em cana-de-açúcar. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 3, p. 579–588, 2011a.
- OLIVEIRA, Z. M. DE et al. Diazotrophic rhizobacteria isolated from sugarcane can release amino acids in a synthetic culture medium. **Biology and Fertility of Soils**, v. 47, n. 8, p. 957–962, 2011b.
- RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ VENEGAS, V. H. (ED.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5. Aproximação**. Viçosa: Comissão de fertilidade do solo do estado de Minas Gerais, 1999. p. 359
- SALVAGIOTTI, F. et al. Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: A review. **Field Crops Research**, v. 108, n. 1, p. 1–13, jul. 2008.
- SCHULTZ, N. et al. Inoculation of sugarcane with diazotrophic bacteria. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, p. 407–414, 2014.
- SHEARER, G.; KOHL, D. H. N₂-Fixation in Field Settings: Estimations Based on Natural ¹⁵N Abundance. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 13, p. 699–756, 1986.
- SILVA, M. D. O. et al. Isolamento e prospecção de bactérias endofíticas e epifíticas na cana-de-açúcar em áreas com e sem cupinicida. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, n. 4, p. 1113–1121, 2012.
- SIMÕES NETO, D. E. et al. Níveis críticos de fósforo em solos cultivados com cana-de-açúcar em Pernambuco. **Revista Ceres**, v. 58, n. 6, p. 802–810, 2011.
- SUN, T. et al. The effects of molybdenum and boron on the rhizosphere microorganisms and soil enzyme activities of soybean. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 35, n. 3, p. 763–770, 29 set. 2012.

TAULÉ, C. et al. The contribution of nitrogen fixation to sugarcane (*Saccharum officinarum* L.), and the identification and characterization of part of the associated diazotrophic bacterial community. **Plant and Soil**, v. 356, n. 1-2, p. 35–49, 26 out. 2011.

TEDESCO, M.J. , et al. **Análises de solos, plantas e outros materiais**. 2ªed. Porto Alegre, UFRGS. 1995. 174p. (Boletim Técnico, 5).

UMESH, U. N. et al. Integrated Effect of Organic and Inorganic Fertilizers on Yield, Quality Parameter and Nutrient Availability of Sugarcane in Calcareous Soil. **Sugar Tech**, v. 15, n. 4, p. 365–369, 23 abr. 2013.

WOLFINGER, R.; CHANG, M. **Comparing the SAS ® GLM and MIXED Procedures for Repeated Measures**. Disponível em: <<http://support.sas.com/rnd/app/stat/papers/mixedglm.pdf>>. Acesso em: 26 ago. 2014.

Capítulo III

Molibdênio como potencializador do acúmulo de biomassa e nitrogênio em cana-de-açúcar

Molybdenum as enhancer of the biomass and N accumulation in sugar cane

Resumo

O Mo é um elemento essencial para as atividades da redutase do nitrato (ARN) em plantas e da nitrogenase (AN) em bactérias, tendo sua concentração uma relação de proporção direta com a atividade destas enzimas. Deste modo, a adubação com Mo em cana-de-açúcar pode aumentar a absorção e/ou assimilação de N, pela potencialização das ARN e AN, e com isso, elevar a produção de biomassa. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adubação molíbdica na produção de biomassa, nos teores e na marcha de absorção de N e Mo na parte aérea da cana planta, em diferentes estádios de crescimento da cultura. Para isso, foram cultivadas duas variedades de cana-de-açúcar (RB867515 e RB92579), submetidas a duas doses de N (0 e 60 kg ha⁻¹) e duas doses de Mo (0 e 200 g ha⁻¹), compondo um arranjo fatorial (2 x 2 x 2). Aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio foram avaliados a produção de matéria seca da parte aérea (MSPA), os teores e os acúmulos de N e de Mo na biomassa aérea das variedades. O acúmulo e a produção de matéria seca da parte aérea (MSPA) das variedades de cana-de-açúcar RB867515 e RB92579 apresentaram respostas diferentes à aplicação de Mo, sem aplicação de N, sendo que a RB92579 produziu mais matéria seca na presença de Mo. A adubação molíbdica elevou o acúmulo de Mo na RB867515 adubada com N, enquanto que na RB92579 este efeito só aconteceu na ausência da fertilização nitrogenada, evidenciando a especificidade varietal quanto ao uso de Mo. O efeito da aplicação de Mo elevou o acúmulo de N das variedades independente da adubação nitrogenada, indicando-se a adubação molíbdica como prática complementar do manejo nutricional da cultura.

Palavras-chave: *Saccharum* spp., produção de matéria seca, adubação molíbdica, adubação nitrogenada, absorção de N.

Abstract

The Mo is an essential element for the activities of nitrate reductase (NRA) in plants and nitrogenase (NA) in bacteria, and its concentration has a directly proportional relationship with the activity of these enzymes. Thus, Mo fertilization in sugar cane can increase N uptake and N assimilation by enhancing both NRA and NA, and then increasing the biomass production. The aim of this study was to evaluate the effect of Mo fertilization in biomass production, the N and Mo levels and accumulation in aboveground of the plant cane at different stages of crop growth. To this aim and under field conditions, two varieties of sugar cane (RB867515 and RB92579) were grown and submitted to two N levels (0 and 60 kg ha⁻¹) and two Mo levels (0 and 200 g ha⁻¹) in a 2 x 2 x 2 factorial design. The production of dry matter of aboveground biomass (DMAB), the N and Mo contents and accumulation in the varieties were evaluated at 70, 100, 130, 200 and 365 days after planting (DAP). The accumulation and production of DMAB in the varieties of sugar cane RB867515 and RB92579 showed different responses to the Mo application, without N, with the RB92579 variety producing more DMAB in the presence of Mo. The Mo application increased the Mo accumulation in the N fertilized RB867515 variety, while in the RB92579 variety this effect only occurred in the absence of N fertilization, showing varietal specificity regarding the Mo use. The effect of Mo increase the N accumulation the varieties, independent N fertilization. This indicates that Mo fertilization as a complementary practice to the nutritional management of the sugar cane.

Key words: *Saccharum* spp., dry matter production, Mo fertilization, N fertilization, N uptake

Introdução

O Brasil é maior produtor mundial de cana-de-açúcar, com cerca de 739.267.042 Mg de colmos produzidos, representando 50% da produção dos quatro maiores produtores mundiais (Brasil, Índia, China e Tailândia) (FAOSTATS, 2014). Entretanto, o patamar alcançado pelo Brasil no cenário mundial só foi possível graças às condições climáticas favoráveis; à seleção de novos genótipos de elevadas produtividades e boas qualidades tecnológicas de seus produtos; às variedades mais tolerantes a pragas e doenças; e ao maior conhecimento da nutrição mineral da cultura, possibilitando melhores recomendações de adubação (LIMA NETO et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2011a).

Entre os nutrientes, o N é muito exigido pela cultura, sendo sua exigência menor apenas que a do K, segundo os resultados de Oliveira et al. (2010), que ao avaliarem a extração de nutrientes por 11 variedades de cana-de-açúcar, encontraram valores médios de 179 e 325 kg ha⁻¹ de N e K, respectivamente. Para suprir a elevada demanda por N, a cana-de-açúcar absorve principalmente o N oriundo do solo. No entanto, o N₂ da atmosfera também pode ser considerado uma importante fonte, pois pode contribuir com cerca de 30% do N absorvido (BODDEY et al., 2003). No solo, cerca de 95% do N total encontra-se na forma orgânica, contudo, as previsões da sua disponibilidade não são confiáveis. Os 5% restantes do N total do solo é composto por formas inorgânicas, principalmente NH₄⁺ e NO₃⁻. As adubações com fertilizantes minerais e orgânicos constituem as principais entradas de N no solo em canaviais convencionais. Todavia, sabe-se, que apenas 5 a 13% do N absorvido do solo pela cana planta é proveniente da fertilização nitrogenada, devido às perdas no sistema solo-planta e a elevada participação de fontes de origem não mineral na sua nutrição (BOUWMAN et al., 2005; FRANCO et al., 2011).

Devido a sua importância para a cultura, diversos pesquisadores vêm desenvolvendo estudos avaliando as respostas da cana planta e das socas à aplicação de N (BOLOGNA-CAMPBELL, 2007; FRANCO et al., 2011; OLIVEIRA, 2012; OLIVEIRA et al., 2013). Especificamente, em cana planta tem se observado resultados muito controversos. Em avaliações realizadas em 135 experimentos em diferentes regiões do país, Azeredo et al. (1986) observaram que em 80% dos casos a cana planta não respondeu a adubação nitrogenada. Utilizando doses de N que chegaram a 120 kg ha⁻¹, Franco et al. (2011) também observaram a ausência de resposta positiva no acúmulo de matéria seca em função da aplicação de N, em dois experimentos em áreas distintas.

Por outro lado, Bologna-Campbell (2007) observou resposta linear entre produtividade da cana-de-açúcar em função da adubação nitrogenada, constatando um aumento expressivo de 55% na produtividade com a dose de 120 kg ha⁻¹ de N. De maneira semelhante, Oliveira (2012), em estudo realizado em três ambientes de produção, observou variação positiva da produtividade da cultura, como resposta ao aumento da aplicação de N.

A variação de resposta à adubação nitrogenada apresentada pela cultura, no ciclo de cana planta, aparentemente, tem relação direta com a sua principal fonte de N, a não mineral (FRANCO et al., 2011). Deste modo, estudos que objetivam aumentar a eficiência de absorção do N mineral do solo podem elevar a resposta da cana a fertilização nitrogenada, inclusive para reduzi-la, diminuindo custos e impactando menos no ambiente.

Tradicionalmente, o N-NO₃⁻ é indicado como a forma preferencialmente absorvida pela cana-açúcar (ROBINSON et al., 2011). No entanto, para a assimilação dessa forma de N é necessário que as quantidades de Mo disponível no solo satisfaçam a exigência da cultura, que o utiliza como ativador da enzima redutase do nitrato nas células das raízes e folhas. Esta enzima é responsável pela redução do nitrato a nitrito na rota da assimilação do N-NO₃⁻ (FITRI et al., 2008), tendo seu fluxo catalítico, ou atividade, diretamente proporcional a disponibilidade de NO₃⁻ e de Mo no solo (KAISER et al., 2005).

Em experimento conduzido com variedades de cana-de-açúcar em sistema hidropônico com areia, Li-Ping et al. (2007) observaram que a atividade da redutase do nitrato (ARN) foi maior quando as canas foram cultivadas na presença de N. Os autores ainda relataram que a ARN foi elevada pelo aumento da concentração de Mo na solução nutritiva, tanto na presença quanto na ausência de N, no entanto, os incrementos não foram proporcionais.

Entre os micronutrientes, o Mo é normalmente encontrado no solo em baixos teores, principalmente em solos mais ácidos (pH<5,0) com elevada presença de óxidos de Fe e Al, podendo nestas condições ocorrer deficiência de Mo (BRENNAN & BOLLAND, 2007; FITRI et al., 2008). A elevação de uma unidade no pH do solo, pode aumentar a disponibilidade de Mo em 100 vezes, sendo desta forma, a correção de solos ácidos uma prática agrícola muito favorável para aumentar a disponibilidade de Mo (KAISER et al., 2005). Plantas deficientes em Mo, têm o metabolismo do N alterado, principalmente quando a forma de N predominante no solo é a nítrica. Nessas condições, a ARN é reduzida ou nula, não sendo iniciada a primeira etapa da redução do

NO_3^- à NH_4^+ , ou seja, há diminuição da assimilação de N, com consequente declínio do crescimento e produtividade (KAISER et al., 2005).

Além do efeito na assimilação do N na cana-de-açúcar, o Mo também atua como regulador da enzima nitrogenase, presente em bactérias de vida livre ou associativas, nos diversos tecidos das plantas, que reduzem o N_2 atmosférico a NH_3 (HIREL et al., 2011; TAULÉ et al., 2011). Isto fica evidenciado no trabalho realizado *in vitro* por Hernandez et al. (2008), que ao sintetizarem a nitrogenase, observaram que a atividade da enzima foi aumentada com o aumento da concentração de Mo no meio.

Li-Ping et al. (2007b) avaliaram o comportamento da atividade da nitrogenase (AN) nas variedades de cana RB72454 e RB867575, sob o efeito de quatro doses de Mo (0; 0,01; 0,02 e 0,04 mg L^{-1}), na ausência e presença de N. Segundo os autores, sob adubação nitrogenada, as doses de Mo promoveram aumento da AN nas raízes e no colmo das duas variedades, e nas folhas apenas na RB72454. Na ausência de N, as doses de Mo elevaram a AN nas folhas e no colmo da variedade RB867575, mas reduziram a atividade da enzima nas folhas, colmo e raízes na RB72454, o que também evidencia a diferença de comportamento entre variedades.

Os benefícios da aplicação de Mo para cana-de-açúcar são significativos, principalmente por aumentar a assimilação do N-NO_3^- absorvido do solo pela sua atuação na redutase do nitrato, bem como contribuir na fixação biológica do N_2 atmosférico pela sua atuação na nitrogenase, o que promoverá aumento dos teores e acúmulo de N na parte aérea da cana planta e, consequentemente, na maior produção de biomassa. Brennan & Bolland (2007) observaram que a produtividade de trigo foi elevada com aplicação de Mo em solos ácidos na Austrália.

Diante do contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de Mo na produção de biomassa, nos teores e na marcha de absorção de N e Mo na parte aérea da cana planta, em diferentes estádios de crescimento da cultura.

Material e métodos

Conduziu-se um experimento em campo na Estação Experimental de Cana-de-açúcar de Carpina (EECAC), no município de Carpina – PE, com coordenadas geográficas 7°51'04'' S e 35°14'27'' W, em um ARGISSOLO VERMELHO AMARELO distrocoeso, de março de 2013 a março de 2014. O município tem altitude de 184 m, com clima predominante As' , tropical chuvoso com verão seco, de acordo com o sistema Köppen e temperatura média anual de 24,2 °C (BELTÃO et al., 2005). A precipitação pluvial ocorrida durante o experimento foi de 1.359 mm (Figura 1).

Adicionalmente, nos dois primeiros meses após o plantio, foi realizada a aplicação de três lâminas de 25 mm de água.

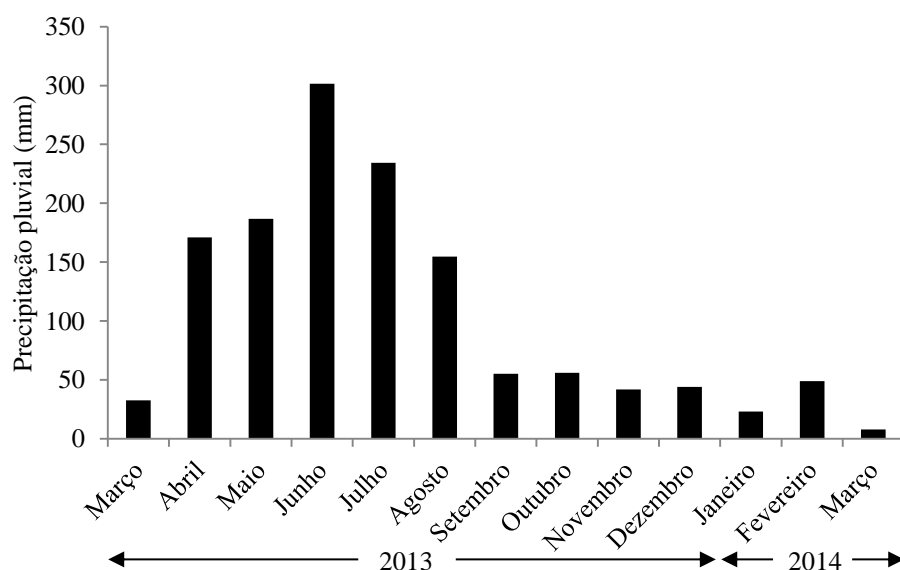


Figura 1. Precipitação pluviométrica durante o ensaio na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, em Carpina – PE.

A caracterização química e física do solo foi realizada em duas profundidades, 0,0 a 0,2 e 0,2 a 0,4 m (Tabela 1), em amostras compostas oriundas da coleta de 15 amostras simples coletadas aleatoriamente. Para caracterização química se determinou o pH (H₂O), Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺, Al³⁺, (H+Al), P, P-rem (P remanescente), Fe, Cu, Zn, Mn, Mo, NH₄⁺, NO₃⁻, δ¹⁵N (abundância natural de ¹⁵N) e COT (carbono orgânico total). O Ca²⁺, Mg²⁺ e Al³⁺ foram extraídos com KCl 1,0 mol L⁻¹ e dosados por titulometria. O P, K⁺, Na⁺, Fe, Cu, Zn, Mn, e Mo foram extraídos com Mehlich-1, sendo o P e o Mo dosados por espectrofotometria, o K⁺ e Na⁺ por fotometria de chama e o Fe, Cu, Zn e Mn por espectrofotometria de absorção atômica. A acidez potencial (H+Al) foi extraída com acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹ e dosada por titulometria. O COT foi determinado por combustão úmida com dicromato de potássio e dosado por titulometria. Todas as análises foram realizadas conforme metodologias descritas pela EMBRAPA (2009).

Com os resultados destas análises químicas, calculou-se a saturação por bases (V), a saturação por Al (m), a capacidade de troca de cátions efetiva (CTC_{efetiva}) e a capacidade de troca de cátions potencial (CTC_{potencial}).

O P-rem foi determinado por espectrofotometria, em extrato obtido após a amostra de solo ficar em equilíbrio com solução de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ contendo 60 mg L⁻¹ de P, de acordo com Alvarez V. et al. (2000). O NH₄⁺ e o NO₃⁻ foram extraídos com

KCl 1,0 mol L⁻¹ e dosados por destilação por arraste de vapores pelo método de Kjeldahl, conforme Tedesco et al. (1995). O ¹⁵N foi determinado por espectrometria de massa, sendo posteriormente calculado o δ¹⁵N, conforme metodologia descrita por Shearer & Kohl (1986).

Fisicamente o solo foi caracterizado pela granulometria, definindo sua classe textural; densidade do solo; densidade das partículas; umidades na capacidade de campo (Θ_{CC}) e no ponto de murcha permanente (Θ_{PMP}); condutividade hidráulica do solo saturado (K₀); e indiretamente, a porosidade total. Todas as análises físicas foram realizadas de acordo com a metodologia proposta pela EMBRAPA (1997).

Foram utilizadas as variedades de cana-de-açúcar RB92579 e RB867515, por serem muito cultivadas no Nordeste e no Brasil, respectivamente (CHAPOLA et al., 2012). O cultivo da cana foi submetido a duas doses de N (0 e 60 kg ha⁻¹) e duas doses de Mo (0 e 200 g ha⁻¹), baseadas no estudo da interação da adubação nitrogenada e molíbdica em cana-de-açúcar desenvolvido por Oliveira (2012), sendo utilizados como fonte de N a ureia e como fonte de Mo o molibdato de sódio. Os fertilizantes foram aplicados em fundação, durante o plantio da cana-de-açúcar. O molibdato de sódio foi diluído em água e aplicado com o auxílio de pulverizador costal,.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, em arranjo fatorial de tratamentos (2 x 2 x 2), em medidas repetidas no tempo, com quatro repetições, totalizando 32 unidades experimentais. Cada parcela foi composta por sete sulcos de 10 m de comprimento, espaçados por um metro, totalizando 70 m². A área útil foi formada pelos cinco sulcos centrais, descartando-se um metro das extremidades, totalizando 40 m². Os dois sulcos localizados nas extremidades da área útil foram utilizados para realização das amostragens destrutivas e os três sulcos centrais para as amostragens não destrutivas.

O experimento foi instalado 40 dias após a aplicação à lanço de 2,2 Mg ha⁻¹ de calcário dolomítico (PRNT de 100%) em área total e incorporado até 0,2 m de profundidade. A necessidade de calagem foi calculada pelo método da saturação por bases (RIBEIRO et al., 1999), estimando uma elevação da saturação para 60%. A adubação foi realizada em fundação com a aplicação de P e K em todas as parcelas. A adubação fosfatada foi realizada considerando o teor de P disponível e a textura do solo de acordo com Simões Neto et al. (2011), sendo aplicados 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅ como superfosfato triplo (40% de P₂O₅). Para o K, a recomendação foi feita com base na expectativa de produção, estimando-se produtividades acima de 100 t ha⁻¹, para tal foi

utilizado um valor médio de eficiência de K₂O de 1,4 kg t⁻¹ de cana (OLIVEIRA et al., 2010), sendo aplicados 140 kg ha⁻¹ de K₂O, como cloreto de potássio (60% de K₂O).

Tabela 1. Atributos químicos e físicos do solo em diferentes profundidades na área do ensaio de campo na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, em Carpina – PE

Atributo	Profundidade (m)	
	0,0 – 0,2	0,2 – 0,4
pH _{água} (1:2,5)	5,2	4,8
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	2,10	1,80
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,50	0,60
K ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,15	0,06
Na ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,04	0,07
Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,50	0,70
(H + Al) (cmol _c dm ⁻³)	5,50	7,50
P (mg dm ⁻³)	19,00	4,00
Fe (mg dm ⁻³)	55,40	41,20
Cu (mg dm ⁻³)	0,10	0,30
Zn (mg dm ⁻³)	2,50	2,40
Mn (mg dm ⁻³)	6,60	5,00
Mo (mg dm ⁻³)	0,14	0,15
COT (g kg ⁻¹) ¹	1,19	1,25
P-rem (mg L ⁻¹) ²	39,57	30,02
NO ₃ ⁻ (mg dm ⁻³)	56,14	65,22
NH ₄ ⁺ (mg dm ⁻³)	20,02	20,64
δ ¹⁵ N (‰) ³	4,72	5,09
CTC _{efetiva} (cmol _c dm ⁻³) ⁴	3,29	3,23
CTC _{potencial} (cmol _c dm ⁻³) ⁵	8,29	10,03
V (%) ⁶	33,66	25,22
m (%) ⁷	15,20	21,67
Areia Total (g kg ⁻¹)	723,00	681,00
Areia Grossa (g kg ⁻¹)	509,80	481,20
Areia Fina (g kg ⁻¹)	213,6	199,40
Silte (g kg ⁻¹)	117,00	80,00
Argila (g kg ⁻¹)	160,00	239,00
Classe Textural	Franco-arenosa	Franco-argilo-arenosa
Ds (kg dm ⁻³) ⁸	1,46	1,41
Dp (kg dm ⁻³) ⁹	2,56	2,47
PT (%) ¹⁰	43,21	42,79
Θ _{CC} (Mg Mg ⁻¹) ¹¹	0,12	0,13
Θ _{PMP} (Mg Mg ⁻¹) ¹²	0,06	0,08

¹Carbono orgânico total; ²Fósforo remanescente; ³Abundância natural de ¹⁵N; ⁴Capacidade de troca de cátions efetiva; ⁵Capacidade de troca de cátions potencial; ⁶Saturação por bases; ⁷Saturação por alumínio; ⁸Densidade do solo; ⁹Densidade de partículas; ¹⁰Porosidade total; ¹¹Umidade na capacidade de campo; ¹²Umidade no ponto de murcha permanente.

O plantio das variedades de cana-de-açúcar foi realizado em sulcos de aproximadamente 0,2 m de profundidade, onde foram distribuídos 14 Mg ha⁻¹ de colmos com sete meses de idade, dispostos em corrente dupla, de modo que a ponta de

um coincide com a base do outro. Posteriormente, os colmos foram seccionados em toletes, havendo uma densidade de 14 gemas por metro, e se procedeu a aplicação dos fertilizantes e fechamento do sulco.

Aos 70, 100, 130 e 200 dias após o plantio (DAP) foram coletadas aleatoriamente três plantas por parcela para determinação da produção de matéria seca da parte aérea (MSPA), dos teores N e Mo, e assim calcular o acúmulo destes nutrientes. Na colheita, aos 365 DAP, foram coletadas 10 plantas. Nesta coleta a avaliação da parte aérea das canas foi compartimentalizada em colmo, folhas e ponteiro, quantificando-se o acúmulo de matéria seca e os teores e acúmulos de N e Mo por compartimento. Como componente ponteiro considerou-se o cartucho e a folha +1; como componente folhas considerou-se as folhas verdes, a partir da folha +1; e como componente colmo foi considerado o restante da biomassa aérea.

A parte aérea das quatro primeiras coletas e os compartimentos separados da última coleta, tiveram suas biomassas pesadas e trituradas em forrageira, sendo retirada uma subamostra para secagem. As subamostras das biomassas foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C, até atingirem peso constante. Em seguida foram trituradas e acondicionadas em sacos plásticos. Com a massa seca das subamostras de biomassa foi estimada a produção de MSPA, sendo expressa em g planta⁻¹.

Para determinação do teor de N foi realizada digestão sulfúrica da subamostra seca e em seguida a destilação do extrato em destilador de Kjeldahl. Para determinação dos teores de Mo procedeu-se a digestão nítrico-perclórica das subamostras secas, e em seguida, o micronutriente foi determinado por espectrofotometria, pelo método de oxidação com KI e H₂O₂. Todas as determinações seguiram os procedimentos descritos em EMBRAPA (2009). A partir do produto do teor do nutriente na biomassa e a MSPA foi obtida a quantidade acumulada de nutrientes pelas variedades de cana-de-açúcar para cada época de avaliação.

A MSPA, os teores e os acúmulos de N e de Mo na parte aérea das variedades de cana foram avaliadas considerando as variedades de cana-de-açúcar, as doses de Mo e de N, como medidas repetidas no tempo. Para isso foi utilizado o pacote estatístico SAS Learning 2.0, seguindo o procedimento para modelo misto, sendo selecionado o teste de covariância [AR(1), Ante (1), ARH (1), ARMA (1), CS, CSH, HF, TOEP, Lin (1), UN] que apresentou o menor valor do critério de Akaike (WOLFINGER & CHANG, 1995). Nas variáveis em que se observaram efeito significativo (p<0,05) foi realizada análise de regressão, sendo selecionando o modelo que melhor representou o fenômeno, aquele

com maior valor de coeficiente de determinação (R^2) e significância dos parâmetros até 5% pelo teste t.

Com os ajustes dos modelos foi possível dividir o acúmulo de biomassa e de nutrientes na parte aérea em três fases (VENEGAS et al., 1998). No ajuste sigmoideal ($y = a / [1 + \exp(\frac{x-x_0}{b})]$), “ x_0 ” corresponde ao ponto de inflexão, ou seja, o dia em que ocorre o maior acúmulo; “ a ” é o maior valor de “ y ” alcançado pelo modelo, ou seja, o valor do maior acúmulo. Nesse modelo, as fases de acúmulo podem ser estimadas pelos seus parâmetros, sendo a primeira fase iniciada no plantio até “ $x_0 - 2b$ ”; a terceira fase se inicia em “ $x_0 + 2b$ ”; e a segunda fase corresponde ao período entre a primeira e a terceira fase.

Os teores de N e Mo para cada variedade e entre os compartimentos da parte aérea (colmo, folha, ponteiro) da cana-de-açúcar, aos 365 DAP, foram avaliados separados, em relação a adubação nitrogenada e molíbdica. Os dados foram submetidos à análise da variância (ANOVA) pelo teste F ($p \leq 0,05$). Nas variáveis cujos efeitos principais e, ou, interação foram significativos, aplicou-se o teste de comparação de médias de Tukey ($p \leq 0,05$).

Resultados e discussão

Acúmulo de matéria seca da parte aérea (MSPA)

Os dados de produção de MSPA em função dos estádios de crescimento das variedades de cana-de-açúcar no ciclo de cana planta se ajustaram ao modelo sigmoide de crescimento vegetal, sendo possível determinar três fases de desenvolvimento (Figura 2).

De maneira geral, a MSPA das variedades de cana-de-açúcar foi maior quando se aplicou N, sendo observada resposta mais expressiva na RB92579. No final do ciclo da cultura, os ganhos de matéria seca na RB867515 e RB92579 pela adubação nitrogenada foram, em média, respectivamente, de 10 e 53% (Figura 2). Respostas positivas da cana-de-açúcar em produção de biomassa com aplicação de N, também foram relatadas por Bologna-Campbell (2007). Segundo o autor, a variedade de cana SP813250 apresentou resposta linear na produção de matéria seca, quando adubada com N, até a dose de 120 kg ha⁻¹ de N. O incremento observado pelo autor foi de 55%, próximo ao obtido na RB92579 neste trabalho. De modo semelhante, Oliveira et al. (2013) observaram variação positiva da MSPA da cultura como resposta ao aumento da dose

de N. Os autores cultivaram a variedade SP813250, com doses de até 120 kg ha⁻¹ de N em três solos, localizados em áreas produtoras de cana-de-açúcar no estado de São Paulo.

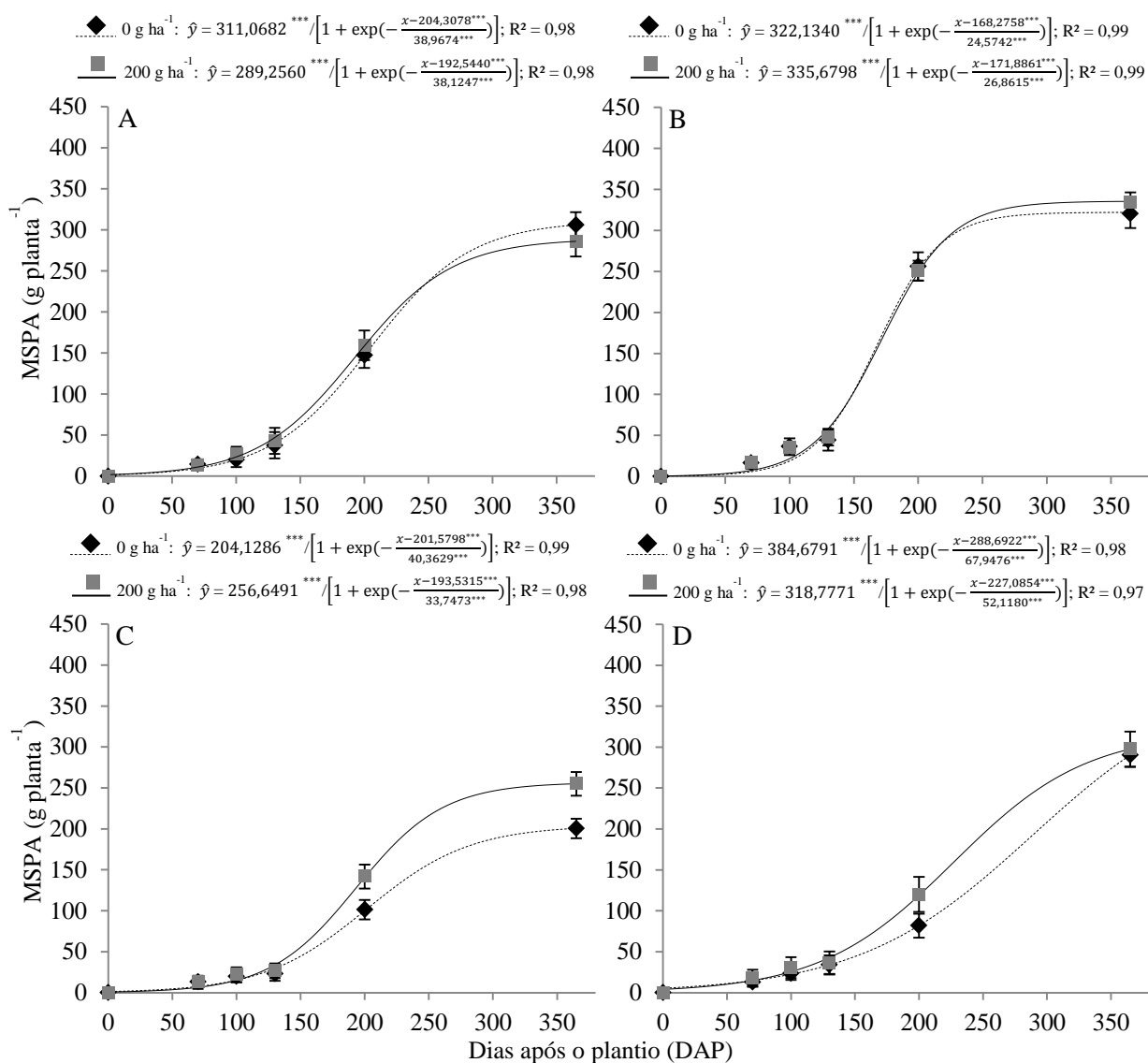


Figura 2. Matéria seca da parte aérea (MSPA) de cana-de-açúcar na ausência e presença molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP).

A aplicação de N elevou a quantidade do nutriente disponível no solo, podendo ser mais absorvido e utilizado pelas variedades. Deste modo, os genótipos de cana-de-açúcar acumularam mais biomassa com a dose de 60 kg ha⁻¹ de N. Este efeito foi mais evidente na RB92579, principalmente quando não foi adubada com Mo, tendo a fertilização com N promovido incremento na MSPA, em média, de 88% (Figura 2).

A aplicação de Mo não elevou a MSPA na variedade RB867515, tanto na ausência quanto na presença da adubação nitrogenada. Entretanto, na RB92579 o Mo elevou a produção de MSPA, quando não houve fertilização nitrogenada (Figura 2). Quando não se adubou com N, a produção de MSPA foi 25% maior com a aplicação de Mo.

Respostas positivas em produção de matéria seca, como efeito da adubação molíbdica não são comuns em gramíneas, como a cana-de-açúcar e o milho. Santos et al. (2010) avaliaram o efeito de diferentes épocas para realizar adubação nitrogenada e molíbdica em milho. De acordo com os autores a produção de matéria seca não foi alterada pela aplicação de 90 g ha⁻¹ de Mo, independentemente da disponibilidade de N.

Entretanto, Brennan & Bolland (2007) observaram que a produtividade de trigo foi elevada com aplicação de Mo em solos ácidos na Austrália. O incremento na produtividade de grãos foi obtido com o aumento de 100% da dose recomendada do micronutriente, sem ter ocorrido a correção do pH do solo. Oliveira (2012) avaliando o efeito da interação da adubação nitrogenada e molíbdica sobre a produtividade de cana-de-açúcar, observou incrementos positivos na produtividade de colmos. Segundo o autor, a produtividade obtida com a aplicação de 120 kg ha⁻¹ de N foi a mesma da combinação de 60 kg ha⁻¹ de N e 200 g ha⁻¹ de Mo, doses semelhantes as utilizadas neste trabalho. E ainda, quando não se adubou com N, foram observados incrementos de até 9 Mg ha⁻¹ de colmo, com a maior dose de Mo, que foi de 1.600 g ha⁻¹.

A diferença de incremento na produção de MSPA como efeito da aplicação de Mo nos genótipos de cana-de-açúcar indica especificidade varietal quanto ao uso deste nutriente, principalmente quando o N está em baixa disponibilidade no solo. É possível que a RB92579 absorva mais o Mo disponível do solo quando se aduba com N, como consequência do maior desenvolvimento do sistema radicular e exploração de maior volume de solo (OTTO et al, 2009). Em situação de baixa disponibilidade de N no solo, tendo a RB92579 absorvido mais Mo, a atividade da redutase do nitrato (ARN) foi estimulada (Figuras 2 e 3, do Capítulo I), levando a maior assimilação/absorção de N pela cana-de-açúcar e, conseqüentemente, a maior produção de matéria seca (KAISER et al., 2005).

Aparentemente, a RB92579 é mais exigente em Mo e não tendo a sua necessidade nutricional atendida pelo teor preexistente no solo (Tabela 1), respondeu positivamente a adubação molíbdica, acumulando mais MSPA, o que não ocorreu com a RB867515 (Figura 2). Essa maior exigência pode ser devida ao maior potencial de produção de biomassa da RB92579 em relação a RB867515. Isso pode ser evidenciado no trabalho de Oliveira et al. (2011b), que avaliaram esses dois genótipos cultivados em dois

regimes hídricos. De acordo com estes autores, a RB92579 foi mais produtiva que a RB867515, tanto em regime de sequeiro, quanto irrigada, com diferença de cerca de 80 Mg ha⁻¹ de colmos com a maior disponibilidade de água.

Na curva de acumulação de matéria seca, a primeira fase de crescimento foi caracterizada pela baixa produção de biomassa, em média, 12% da massa total (Figura 2). Na RB867515 quando se adubou com N e/ou Mo, esta fase finalizou em média aos 118 DAP, enquanto que na ausência de adubação, o acúmulo inicial de massa seca ocorreu até os 126 DAP. A adubação, mesmo que só a molíbdica, antecipou o início da segunda fase de crescimento na RB867515 em oito dias. Além disto, nesta fase, a aplicação de N e Mo elevou a produção de matéria seca em 8% em relação a não adubada. Isto pode ser importante para cana-de-açúcar, porque quanto mais rápido a planta se formar, mais tempo ela pode dispor para concentrar açúcar.

Na RB92579, o final da primeira fase de crescimento ocorreu num tempo superior a RB867515, em média, aos 131 DAP (Figura 2). Apesar das duas variedades serem consideradas de ciclo médio a tardio (BARBOSA et al., 2001, 2003), possivelmente a RB92579 apresenta crescimento mais lento, pelo menos nos primeiros meses após o plantio. No entanto, o início da segunda fase de crescimento da RB92579 ocorreu aos 153 DAP, quando recebeu N, enquanto que nas demais combinações de adubação, esta fase só se iniciou aos 123 DAP. Nesta fase a maior produção de matéria seca da RB92579 ocorreu com a aplicação de 60 kg ha⁻¹ de N, com acúmulo de 46 g planta⁻¹, provavelmente, devido ao maior tempo de crescimento da primeira fase.

De acordo com Jadoski et al. (2010), entre 20 e 30 DAP da cana se inicia a brotação das gemas e emissão dos primórdios radiculares. Nesta fase a planta utiliza-se das reservas de nutrientes do colmo. Após este período, de 40 a 120 DAP, acontece a fase de perfilhamento. Desta forma, a maior disponibilidade de N e/ou de Mo pela adubação, associada a disponibilidade hídrica pela precipitação pluviométrica no período (Figura 1), provavelmente, promoveram maior acúmulo de N pelos perfilhos, levando ao maior acúmulo de matéria seca nesta fase de crescimento. Entretanto, a não observância da elevação da produção da MSPA na primeira fase pela aplicação de Mo na RB867515 e na RB92579, respectivamente, na ausência e presença da adubação nitrogenada, provavelmente, foi devido a redução da duração do período, levando ao menor acúmulo de biomassa.

Na segunda fase de crescimento da cana-de-açúcar foram observados os maiores acúmulos de matéria seca, em média, 75% da biomassa produzida, tendo se finalizado, em média, aos 249 e 310 DAP, respectivamente na RB867515 e RB92579 (Figura 2). O

período de duração da segunda fase na RB867515 foi antecipado pela adubação nitrogenada, perdurando por 154 e 103 dias, em média, respectivamente na ausência e presença da adubação nitrogenada. A adubação molíbdica reduziu em 4 dias a segunda fase de produção de biomassa, apenas quando não houve adição de N. Nesta fase, a produção de MSPA foi 10% maior, em média, com a aplicação de N, e foi aumentada em 5% pela adubação molíbdica, quando se utilizou ureia.

Assim, como observado na RB867515, o tempo de duração da segunda fase na RB92579 foi reduzido pela adubação molíbdica, no entanto, com adição de N, o segundo período de produção de biomassa teve maior duração, com valor médio de 210 dias (Figura 2). O incremento na MSPA nesta fase, com o uso do Mo, apenas foi constatado quando não houve adubação nitrogenada, com aumento de 26% na MSPA.

Após a estabilização do número de perfilhos, aos 120 DAP, se inicia a fase de crescimento da parte aérea, onde ocorrem a formação e alongamento dos colmos, que resulta na produção, perdurando até os 270 DAP (JADOSKI et al., 2010). No entanto, para isso, se faz necessário o fornecimento de quantidades adequadas dos nutrientes, em especial do N. Desta forma, a aplicação de ureia aumentou a disponibilidade de N no solo, que foi absorvido pelas variedades de cana-de-açúcar, levando ao incremento da MSPA.

Adicionalmente, a assimilação de N parece ter aumentado na RB92579 pela aplicação do Mo, quando não se adubou com ureia, sendo o provável motivo da elevação da produção de biomassa, mesmo com a redução da duração da fase. Esse resultado está de acordo com os valores da ARN observados no primeiro Capítulo, nos quais foram observados aumentos de sua atividade pela aplicação de Mo, principalmente nas raízes (Figuras 2 e 3, do Capítulo I). Esse comportamento reforça a hipótese da especificidade varietal quanto ao uso de Mo, evidenciando que a RB92579 responde a aplicação de Mo, incrementando sua MSPA.

A terceira fase de crescimento apresentou valores de acúmulo de matéria seca próximos aos observados na primeira fase, correspondendo, em média, a 13,5% da biomassa produzida, bem como foi o menor período de produção (Figura 2). Na RB867515 a aplicação de N elevou a duração da fase, perdurando por 89 e 143 dias, respectivamente, na ausência e presença de N. O incremento na MSPA pela aplicação de Mo ocorreu apenas com a fertilização nitrogenada, mesmo tendo reduzido o período em nove dias, as plantas acumularam 40 g planta⁻¹.

Entretanto, a duração da terceira fase de crescimento da RB92579 foi maior na ausência da fertilização com N e durou 93 dias, com incremento médio de 27 g planta⁻¹

(Figura 2D). Quando se adubou apenas com N, até a última avaliação (365 DAP), a RB92579 não havia iniciado a terceira fase, uma vez que a equação não representou a estabilização da produção. Durante o ciclo da RB92579 adubada apenas com N, a primeira e a segunda fases de produção de matéria seca foram mais longas, totalizando 365 dias. Deste modo, o acúmulo de biomassa na terceira fase não foi iniciado, sendo necessária a avaliação por mais tempo.

Na última fase de crescimento acontece a maturação da cana-de-açúcar com a concentração de sacarose, que de acordo com Santos et al. (2009) ocorre entre 240 e 360 DAP. Desta forma, o período indicado como a fase de maturação por esses autores foi semelhante ao observado neste trabalho.

O maior número de dias observados na terceira fase de acúmulo de MSPA da RB867515 com a adubação molíbdica, se deve ao aumento da velocidade de acúmulo de biomassa ocorrido nas duas primeiras fases, ou seja, maior acúmulo em menor tempo, levando a estabilização precoce da produção.

Teor de Mo e de N na biomassa aérea

Os dados dos teores de Mo na parte aérea em função dos estádios de crescimento das variedades de cana-de-açúcar, até os 200 DAP, se ajustaram a modelo quadrático decrescente, possibilitando observar que o teor de Mo se reduziu até os 130 DAP e, posteriormente aumentou, variando de 0,64 a 0,89 mg kg⁻¹ de Mo (Figura 3). Nos primeiros meses de desenvolvimento da cana-de-açúcar, ocorreu baixa produção de MSPA (Figura 2), o que deve ter ocasionado o elevado teor de Mo por um efeito de concentração, que posteriormente diluiu-se com o aumento da biomassa. Quando se inicia a fase de maior acúmulo de biomassa, em média, aos 125 DAP, acontece também o maior acúmulo de N (OLIVEIRA et al., 2011a), requerendo-se maior quantidade de Mo para a assimilação do N-NO₃⁻. Dessa forma, o aumento do teor de Mo na MSPA, possivelmente, foi causado pela necessidade em atender a demanda da ARN.

O comportamento do teor de Mo na MSPA da RB92579 em função dos estádios de crescimento da cana-de-açúcar foi distinto com a adubação nitrogenada (Figura 3C e D). Quando não se aplicou N, os teores de Mo foram maiores a partir dos 70 DAP pela sua suplementação. Com a aplicação de 60 kg ha⁻¹ de N, os teores de Mo só foram maiores a partir dos 100 DAP. Entretanto, os teores de Mo na parte aérea não foram alterados pela adubação nitrogenada, sendo, em média, de 0,32 e 0,42 mg kg⁻¹, respectivamente na RB867515 e RB92579. Entretanto, independente da adubação nitrogenada ou molíbdica, o teor de Mo na RB92579 foi 31% maior que na RB867515.

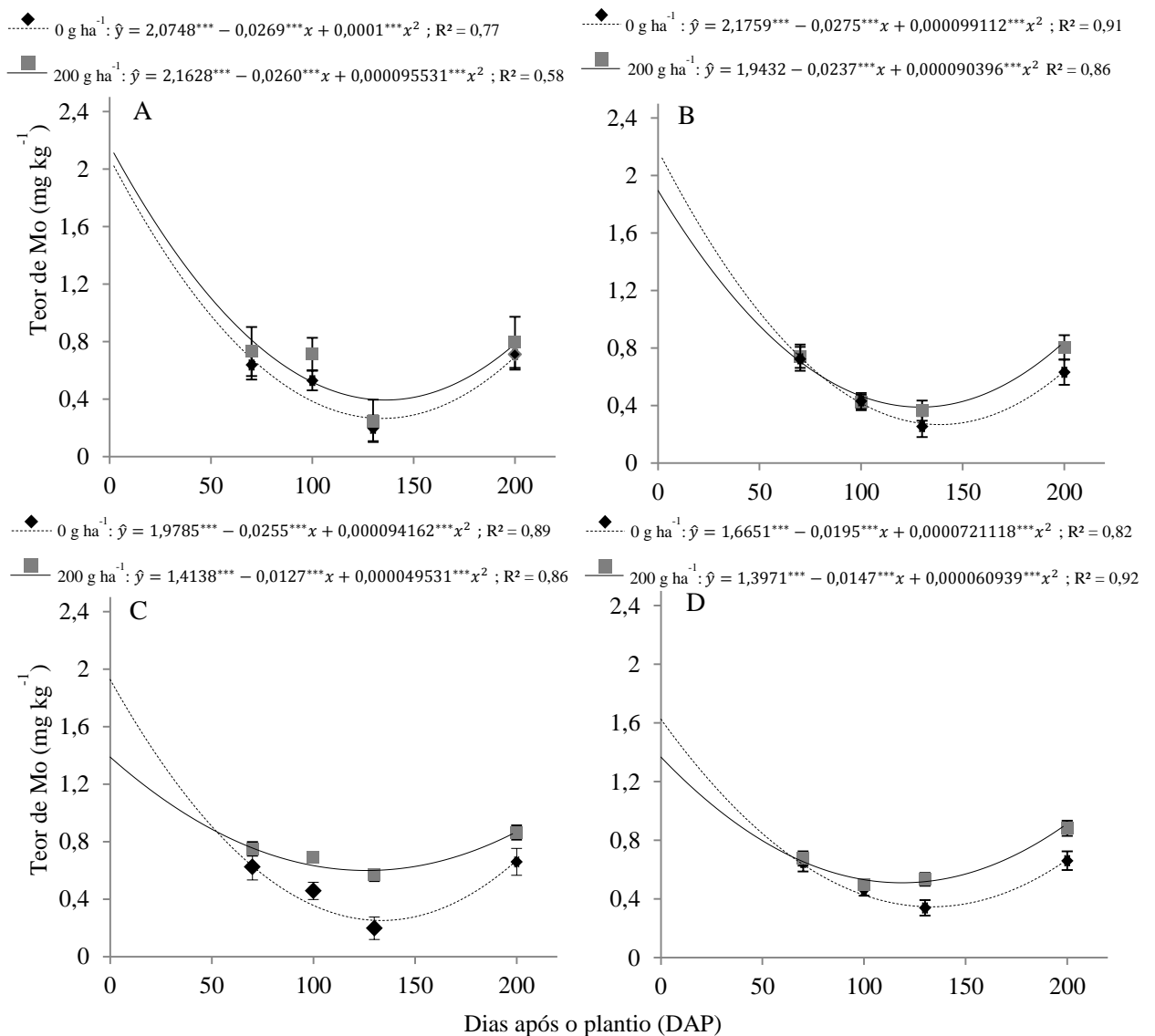


Figura 3. Teor de molibdênio na parte aérea de cana-de-açúcar na ausência e presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP).

A adubação nitrogenada estimula o desenvolvimento radicular e aumenta o volume de solo explorado (OTTO et al., 2009), o que permite uma maior absorção de Mo, mesmo na fase inicial de crescimento, onde o requerimento de Mo é baixo. Posteriormente, na fase de maior crescimento, a partir dos 100 DAP, a exigência da planta aumentou e com a maior disponibilidade de Mo em virtude da adubação molíbdica, os teores cresceram. Estudando a mesma variedade, Oliveira (2012) observou aos 14 meses de idade, aumento da concentração de Mo na folha com adubação molíbdica.

A adubação molíbdica aumentou o teor do Mo na parte aérea apenas da variedade RB92579, sendo observados ganhos significativos a partir dos 70 e 100 DAP, respectivamente na ausência e presença da adubação nitrogenada (Figura 3C e D). Os maiores incrementos nos teores de Mo na parte aérea da RB92579 foram de 140 e 37%, respectivamente na ausência e presença de N (Figura 3C e D). Na RB867515, tanto na ausência, como na presença da adubação nitrogenada, a aplicação de Mo elevou o seu teor em 50%. Na RB92579, essa elevação foi de 140 e 46%, respectivamente na ausência e na presença da adubação nitrogenada. Com a maior disponibilidade de Mo no solo pela sua suplementação, provavelmente a RB92579 absorveu mais e o translocou em quantidades maiores para a parte aérea, aumentando os seus teores no tecido vegetal (MORAES et al., 2008).

Aos 200 DAP, os teores de Mo variaram, em média, de 0,64 a 0,82 mg kg⁻¹ na RB867515, e de 0,64 a 0,89 mg kg⁻¹ na RB92579 (Figura 3). Polidoro (2001) avaliando os teores de Mo em 48 canaviais cultivados com diferentes variedades e em diferentes Estados do Brasil, encontraram valores que variaram de 0,13 a 1,82 mg kg⁻¹ na folha +3, sugerindo diferentes exigências por Mo das variedades, além das variações naturais das condições de fertilidade dos diferentes solos, onde se avaliou os teores de Mo na cana-de-açúcar. Por outro lado, a avaliação realizada numa folha índice, como a realizada por Polidoro (2001), difere de uma avaliação em toda a biomassa da parte aérea, como a realizada neste trabalho.

Os maiores teores e incrementos de Mo na RB92579 com a sua suplementação, indicaram que este genótipo é mais exigente neste nutriente que a RB867515. Esses resultados corroboram o comportamento da produção de MSPA, onde a RB92579 respondeu positivamente a aplicação de Mo na ausência da adubação nitrogenada, principalmente na fase de maior acúmulo de N, evidenciando a sugestão de que o micronutriente atuou como potencializador da assimilação de N-NO₃⁻ (Figuras 2 e 3, do Capítulo I).

Os dados dos teores de N na parte aérea em função dos estádios de crescimento da RB867515 quando não se aplicou Mo, na ausência e na presença de N, se ajustaram a modelo exponencial decrescente (Figura 4). Já quando a variedade foi adubada apenas com Mo e com Mo e N, os dados dos teores de N se ajustaram a, respectivamente modelo linear e modelo quadrático, todos decrescentes. Os dados dos teores de N na RB92579 se ajustaram a modelo linear decrescente, exceto quando a variedade recebeu apenas N, em que os dados se ajustaram a modelo exponencial decrescente (Figura 4). Todos os modelos indicaram que os teores de N foram mais altos aos 70 DAP e se

reduziram ao logo do ciclo da cultura, tendo-se observado tendência de estabilização próxima aos 200 DAP.

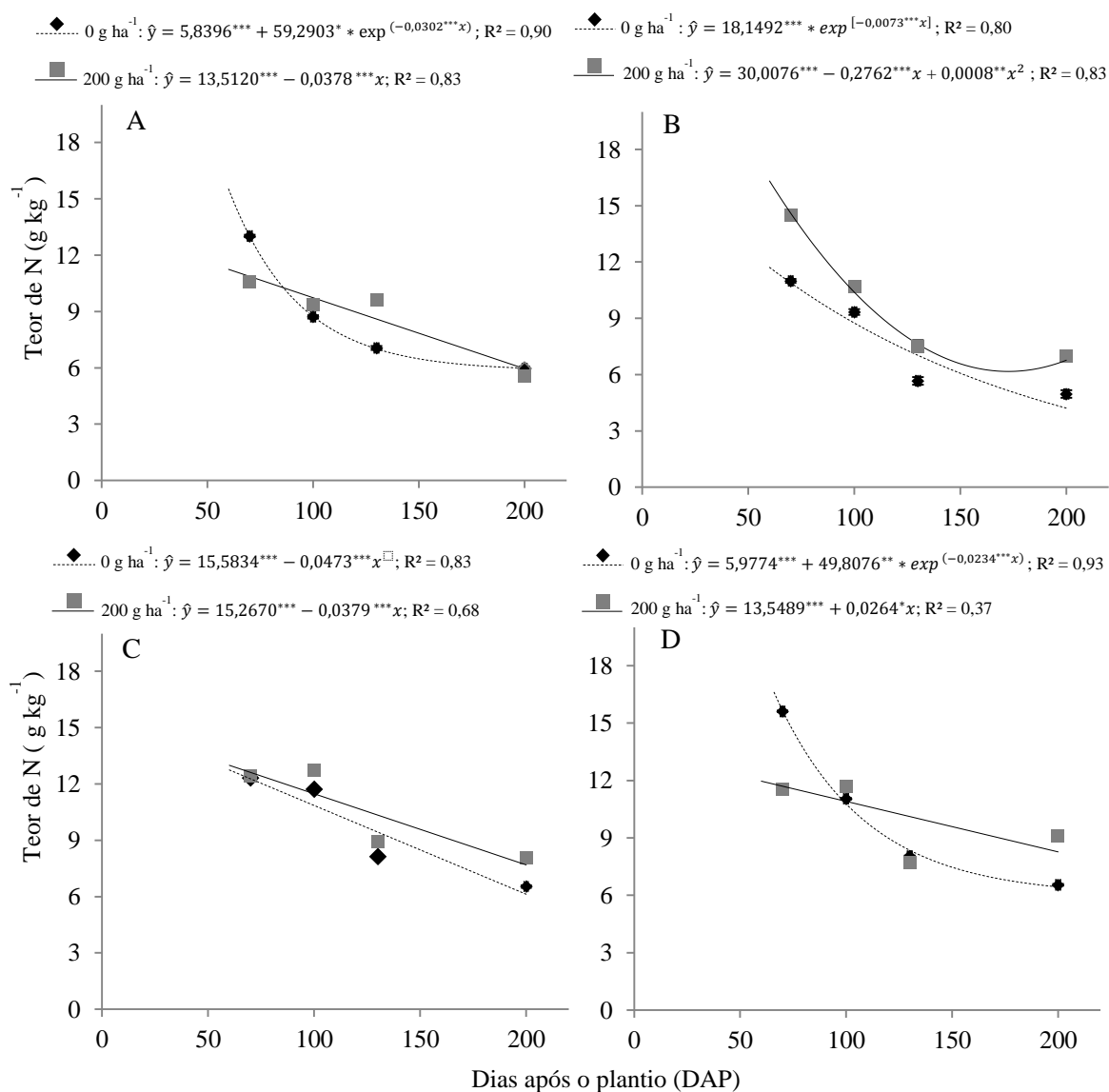


Figura 4. Teor de nitrogênio na parte aérea de cana-de-açúcar na ausência e presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP).

O variação dos teores de N durante o ciclo da cana planta encontrada neste trabalho foram próximos aos observados por Oliveira et al. (2013). Segundo os autores, os teores de N na biomassa aérea da SP813250 variaram de 15 a 3 g kg⁻¹ de N, dos 123 aos 490 DAP, quando a variedade foi cultivada em três ambientes no estado de São Paulo. Essa variação foi resultado do aumento da eficiência de uso de N, ou seja, pelo maior acúmulo de MSPA do que a absorção do nutriente, causando efeito de diluição

(OLIVEIRA et al., 2013). O acúmulo de biomassa e o teor de N apresentaram comportamentos inversos, assim como constatado neste trabalho (Figuras 3 e 4).

Os teores de N na parte aérea da variedade RB867515 foram maiores com a aplicação de 200 g ha⁻¹ de Mo (Figura 4). Quando a RB867515 não foi adubada com N, os teores de N se diferenciaram pela aplicação do Mo dos 100 aos 200 DAP. Quando se adubou com N, seus teores na MSPA foram elevados com a aplicação de Mo aos 200 DAP. Na RB92579 os teores de N foram evidentemente maiores a partir dos 100 DAP, na ausência e na presença de N.

Oliveira (2012) também constatou aumento do teor de N na parte aérea (colmo, folha e ponteiro) da variedade de cana RB92579 com a aplicação de Mo. Incrementos nos teores de N pela adubação molíbdica em folha de milho foram observados por Valentini et al. (2005). Segundo os autores, esse efeito foi ainda maior com o aumento da dose de N.

O aumento dos teores de N com a aplicação de Mo pode ter sido devido: ao estímulo que o micronutriente promoveu na ARN observados na folha +1 e nas raízes de ambas as variedades de cana-de-açúcar (Figuras 2 e 3, do Capítulo I), acelerando e aumentando a assimilação de N; ou ainda, pela potencialização da AN, como também observado na folha +1 e nas raízes da RB867515 (Figuras 2 e 3, do Capítulo II), aumentando à absorção de N.

Possivelmente a diferenciação dos teores de N pela aplicação de Mo iniciada, de maneira geral, após os 100 DAP, foi devido ao início da segunda fase de acúmulo de biomassa. Nesta fase as variedades necessitaram mais de N para o crescimento e com a aplicação de Mo o N foi mais absorvido com o aumento da eficiência da assimilação do N mineral do solo, pela potencialização da ARN.

Teor de Mo e de N nos componentes da biomassa aérea

O teor de Mo nos compartimentos da parte aérea aos 365 DAP variaram entre as variedades e foram maiores com a adubação nitrogenada (Tabela 2). No colmo, o teor de Mo variou entre 0,42 e 0,66 mg kg⁻¹, sendo observado, apenas na RB867515 quando adubada com N, efeito sinérgico da adubação molíbdica, com incremento de 50% no teor de Mo. Nas folhas da RB867515, o teor de Mo variou apenas pela adubação nitrogenada, sendo 30% maior com a dose de 60 kg ha⁻¹ de N (Tabela 2). Todavia, nas folhas da RB92579 o teor de Mo aumentou quando houve suprimento de N em conjunto com a adubação molíbdica. Para o ponteiro não se observou alterações nos teores pelas

adubações, isoladas ou conjuntas, verificando-se valor médio de 0,45 mg kg⁻¹ de Mo neste compartimento (Tabela 2).

Oliveira (2012) também observou aumento do teor de Mo nos componentes da parte aérea com a adubação nitrogenada. Segundo o autor isso pode indicar que a exigência do micronutriente se eleva com a maior disponibilidade de N no solo. Entretanto, de maneira geral, os teores de Mo encontrados por Oliveira (2012) foram inferiores aos deste trabalho, o que pode ser atribuído a elevada produção de MSPA.

O N-NO₃⁻ absorvido pelas raízes pode ser assimilado, dependendo de sua disponibilidade e da espécie vegetal, no próprio órgão ou em órgãos aéreos. Durante a assimilação no citossol, o NO₃⁻ é reduzido a NO₂⁻ pela redutase do nitrato, principalmente nas folhas (FITRI et al., 2008). Sendo assim, a maior absorção e assimilação de NO₃⁻ pela cana-de-açúcar com a adubação nitrogenada, elevou a necessidade de maior ARN, aumentando a exigência por Mo, como discutido no Capítulo I.

Adicionalmente, o aumento dos teores de Mo promovido pela adubação nitrogenada nos componentes colmo da RB867515 e folhas da RB867515 e RB92579, pode ser atribuído a maior absorção do Mo pela expansão do sistema radicular, explorando maior volume de solo (OTTO et al., 2009), ou seja, a cana teve acesso a maiores áreas de solo, crescendo a possibilidade dela acessar maiores quantidades de Mo disponível. Essa hipótese é apoiada pelo fato de que este comportamento se deu apenas quando se aplicou 200 mg ha⁻¹ de Mo, ou seja, em situação de maior disponibilidade de Mo no solo.

O teor de N apresentou diferente comportamento entre as variedades com o uso de Mo e N (Tabela 2). Na RB867515, a adubação molíbdica reduziu os teores de N, nos compartimentos folhas e ponteiro e aumentou no colmo, na ausência da adubação nitrogenada. Todavia, quando a adubação molíbdica foi realizada verificou-se no colmo e nas folhas, respectivamente redução e aumento no teor de N com a sua fertilização. O menor teor de N no colmo com a adubação conjunta de N e Mo se deve a maior produção de MSPA (Figura 2A e B). Nos componentes da parte aérea da RB92579 não se observaram alterações nos teores de N, nem pela aplicação de N, nem pela aplicação de Mo (Tabela 2).

Tabela 2. Teores de molibdênio e de nitrogênio em colmos, folhas e ponteiros da parte aérea de diferentes variedades de cana-de-açúcar na ausência e presença de Mo e na ausência e presença de N aos 365 dias após o plantio (DAP)

Fator	Colmo						Folhas						Ponteiro					
	RB867515			RB92579			RB867515			RB92579			RB867515			RB92579		
	Mo (g ha ⁻¹)		Média	Mo (g ha ⁻¹)		Média	Mo (g ha ⁻¹)		Média	Mo (g ha ⁻¹)		Média	Mo (g ha ⁻¹)		Média	Mo (g ha ⁻¹)		Média
	0	200		0	200		0	200		0	200		0	200		0	200	
N (kg ha ⁻¹)	----- Teor de Mo (mg kg ⁻¹) -----																	
0	0,54 Aa	0,42 Ba	0,48	0,59	0,66	0,62	0,32	0,36	0,34 B	0,47 Aa	0,38 Ba	0,42	0,41	0,44	0,42	0,49	0,43	0,46
60	0,46 Aa	0,63 Aa	0,54	0,52	0,57	0,54	0,45	0,45	0,45 A	0,45 Aa	0,54 Aa	0,49	0,47	0,44	0,45	0,48	0,47	0,47
Média	0,50	0,52		0,55	0,61		0,38	0,40		0,46	0,46		0,44	0,44		0,48	0,45	
Mo	F			F			F			F			F			F		
	0,0 ^{ns}			3,21 ^{ns}			0,31 ^{ns}			0,00 ^{ns}			0,00 ^{ns}			2,84 ^{ns}		
N	2,66 ^{ns}			4,93 ^{ns}			6,88 [*]			9,05 [*]			0,48 ^{ns}			0,59 ^{ns}		
Mo*N	15,42 ^{**}			0,03 ^{ns}			0,25 ^{ns}			14,41 ^{**}			0,58 ^{ns}			1,46 ^{ns}		
CV (%)	2,4			2,0			2,9			1,6			2,9			1,5		
N (kg ha ⁻¹)	----- Teor de N (g kg ⁻¹) -----																	
0	1,59 Ab	2,85 Aa	2,22	2,41	2,03	2,22	8,14 Aa	6,82 Bb	7,48	7,90	7,52	7,71	9,27 Aa	8,12 Ab	8,69	9,54	9,87	9,70
60	2,28 Aa	1,89 Ba	2,08	2,25	2,38	2,31	7,33 Aa	8,05 Aa	7,69	8,56	7,63	8,09	8,31 Aa	8,78 Aa	8,54	9,05	9,73	9,39
Média	1,93	2,37		2,33	2,20		7,73	7,43		8,23	7,57		8,79	8,45		9,29	9,80	
Mo	F			F			F			F			F			F		
	3,81 ^{ns}			0,12 ^{ns}			1,64 ^{ns}			4,44 ^{ns}			2,13 ^{ns}			1,32 ^{ns}		
N	0,23 ^{ns}			0,24 ^{ns}			0,59 ^{ns}			1,23 ^{ns}			0,30 ^{ns}			0,39 ^{ns}		
Mo*N	15,57 ^{**}			0,65 ^{ns}			13,40 ^{**}			0,69 ^{ns}			11,17 ^{**}			0,11 ^{ns}		
CV (%)	9,9			12,2			3,5			3,9			2,7			4,7		

Letras minúsculas iguais na linha e maiúsculas na coluna não diferem pelo teste de Tukey; ^{ns} não significativo; ^{*}, ^{**} significativos, respectivamente, aos níveis de 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

Diferente deste trabalho, Oliveira (2012) observou efeito positivo da adubação nitrogenada nos teores de N no colmo e ponteiro de cana-de-açúcar sob a dose de 200 g ha⁻¹ de Mo, principalmente quando se compara as doses de 0 e 60 kg ha⁻¹ de N. Nas folhas e no ponteiro o teor de N encontrados pelo autor foram inferiores aos deste trabalho, representando, respectivamente 47 e 86% dos valores médios das variedades. Essa diferença nos teores de N pode ser devido a menor produção de matéria seca pelas variedades neste trabalho, concentrando o nutriente.

Provavelmente, na variedade RB92579, a absorção e translocação de N foram proporcionais a produção de matéria seca, nos diferentes teores de N e Mo no solo, mantendo a concentração de N constante. A adubação nitrogenada e molíbdica, de forma isolada e conjunta, promoveram maior incremento de matéria seca e, possivelmente, maior eficiência de utilização de N na RB867515, ocasionando a diluição dos seus teores.

Acúmulo de Mo e de N na biomassa aérea

Os dados de extração de Mo e de N em função dos estádios de crescimento das variedades de cana-de-açúcar ao longo do ciclo da cana planta também se ajustaram ao modelo sigmoide, sendo possível identificar três fases de acúmulo dos nutrientes (Figuras 5 e 6).

Na RB867515 a aplicação de Mo promoveu incremento em seu acúmulo apenas quando foi adubada com N, enquanto que na RB92579 o efeito ocorreu na ausência da adubação nitrogenada (Figura 5B e C). Esse comportamento levanta a hipótese de que os genótipos de cana-de-açúcar apresentaram-se diferentes quanto ao uso do N. Com o aumento da disponibilidade de N no solo pela adubação nitrogenada, a RB867515 expandiu seu sistema radicular (OTTO et al., 2009), absorvendo mais o Mo, que foi incrementado pela adubação molíbdica. Na RB92579, o maior acúmulo de Mo na ausência da fertilização nitrogenada parece ter sido decorrente do incremento na produção de MSPA (Figura 2C).

Para o Mo, a primeira fase foi caracterizada pelos baixos acúmulos, em média 12% do total extraído em todo o ciclo, perdurando até os 135 e 133 DAP, respectivamente na RB867515 e RB92579 (Figura 5). Entre as variedades, a adubação molíbdica antecipou o início da segunda fase, sendo mais expressiva na RB92579, independente da ausência ou presença de N.

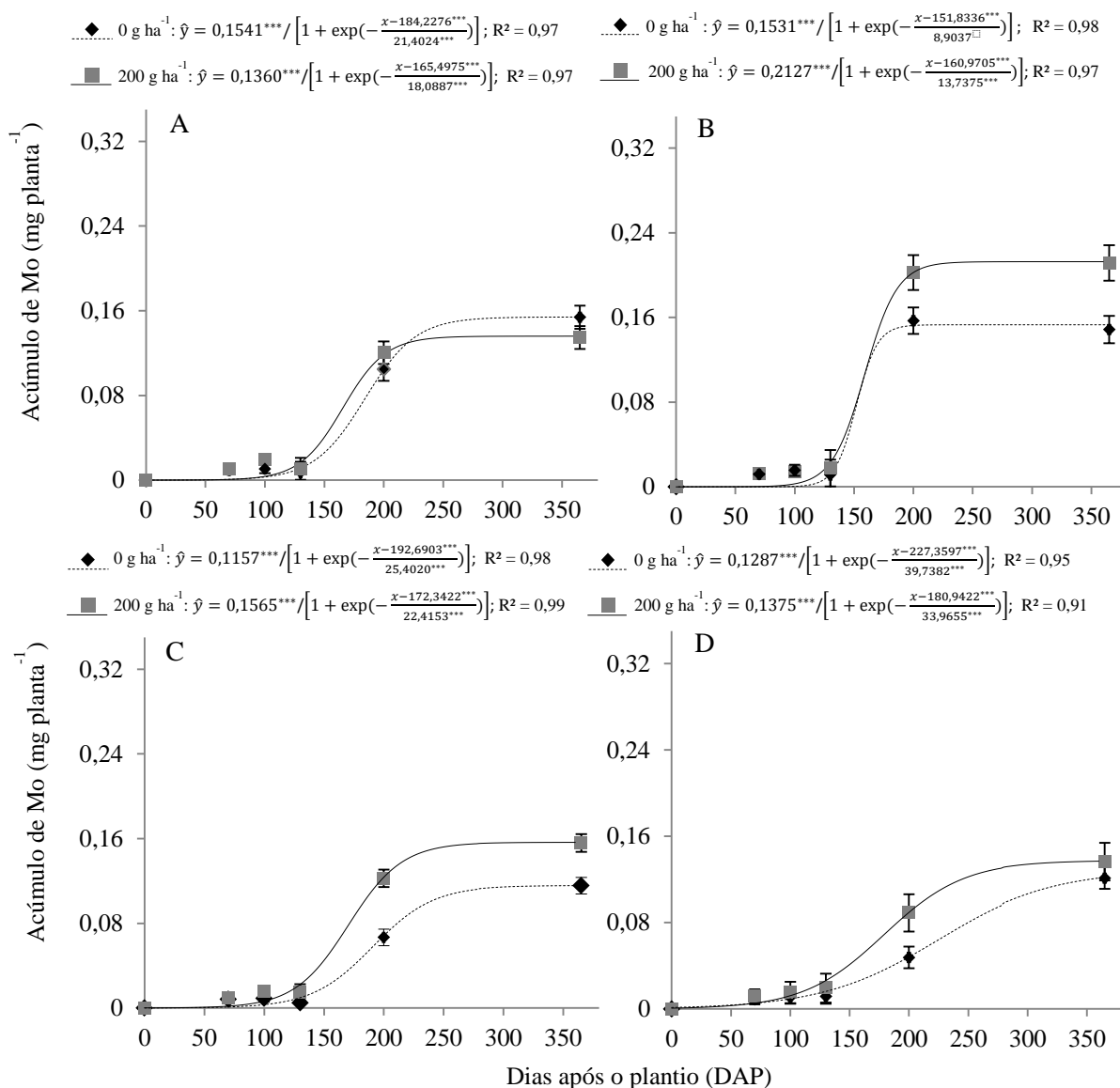


Figura 5. Acúmulo de molibdênio na parte aérea de cana-de-açúcar na ausência e presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP).

Nesta fase, a aplicação de 200 g ha⁻¹ de Mo promoveu redução do período de duração da fase, que variou de 11 e 31% na RB92579, respectivamente na ausência e presença da adubação nitrogenada (Figura 5C e D). Entretanto, apenas na condição de ausência de N foi observado aumento no acúmulo de Mo pela sua aplicação, que cresceu de 0,01 para 0,02 mg planta⁻¹.

Na RB867515, a principal redução do tempo da primeira fase de acúmulo de Mo ocorreu quando não se adubou com N, com diferença de 12 dias (Figura 5A). Nessa condição de presença de N, não foram observadas alterações na absorção de Mo pela

sua aplicação, tendo-se acumulado 0,02 mg planta⁻¹. No entanto, na dose de 60 kg ha⁻¹ de N, a adubação com Mo promoveu incremento de 50% em seu acúmulo.

Com a maior disponibilidade de Mo no solo promovida pela adubação molíbdica, a RB92579 o absorveu mais, o que permite sugerir que esta variedade, na primeira fase, apresentou maior exigência em Mo que a RB867515, em relação as quantidades disponíveis no solo antes das adubações.

O maior acúmulo de Mo na biomassa aérea das variedades de cana-de-açúcar ocorreu na segunda fase, cerca de 76% do extraído, tendo duração de 62 e 122 dias, respectivamente na RB867515 e RB92579 (Figura 5). Quando não se adubou com N, a segunda fase da RB867515 se antecipou em 14 dias com o uso do Mo, enquanto que com a dose de 60 kg ha⁻¹ de N, o período foi estendido em 19 dias. Possivelmente, como já discutido, a adubação nitrogenada favoreceu a expansão do sistema radicular desta variedade, que passou a absorver mais Mo, acumulando-o mais em sua biomassa.

Na RB92579, a duração da segunda fase foi reduzida pelo Mo, em 12 e 23 dias, respectivamente nas doses de 0 e 60 kg ha⁻¹ de N (Figura 5). Entretanto, apenas em condição de baixa disponibilidade de N foi observado aumento do acúmulo de Mo, com incremento de 33%. Provavelmente a adubação molíbdica possibilitou a absorção mais rápida de Mo para atender a sua exigência nutricional nessa fase.

O acúmulo de Mo na terceira fase foi semelhante ao ocorrido na primeira, correspondendo a 12% do absorvido, tendo duração de 168 e 111 dias, respectivamente na RB867515 e RB92579 (Figura 5). Na RB867515, a duração da terceira fase foi aumentada em 18% e reduzida em 10%, respectivamente na ausência e presença do N. Entretanto, mesmo o Mo reduzindo a duração da terceira fase, o seu acúmulo foi maior com a aplicação conjunta dos nutrientes, que foi de 0,03 mg planta⁻¹.

A terceira fase da RB92579 foi prolongada pela adubação molíbdica. Como o Mo antecipou a sua extração na segunda fase, aumentou a duração da terceira fase (Figura 5C e D). Quando se adubou com N, a adubação molíbdica estendeu a terceira fase de acúmulo em 100%, de 58 a 116 dias. Apesar das diferenciações dos períodos, o menor acúmulo de Mo no período foi observado apenas quando não se adubou a RB92579 e foi de 0,01 mg planta⁻¹. Nas demais combinações de adubação, o acúmulo de Mo foi de 0,02 mg planta⁻¹, ou seja, nesta fase o maior acesso ao Mo do solo pode ser atribuído a adubação nitrogenada e/ou molíbdica.

Resposta positiva em extração de Mo pela sua suplementação também foi observada por Oliveira (2012). O autor constatou, ao final do ciclo de cana planta, que o acúmulo de Mo na biomassa aérea (colmo, folha e ponteiro) da RB92579 foi maior com

a adubação molíbdica, principalmente, quando comparada a dose de 0 e 200 g ha⁻¹ de Mo, como encontrado neste trabalho.

As maiores variações do acúmulo de Mo pela adubação molíbdica ocorreram na segunda fase (Figura 5). Isso, provavelmente, porque esta fase coincidiu com o período de alongamento dos colmos, de maior acúmulo de biomassa (Figura 2) e maior absorção de nutrientes (JADOSKI et al., 2010). Desta forma, a maior disponibilidade de Mo no solo pela sua adubação, levou a sua maior absorção, principalmente com a fertilização nitrogenada, indicando a importância da inclusão desta prática na nutrição da cultura, especialmente quando se aduba com N.

De maneira geral, o acúmulo de N em ambos os genótipos de cana, na ausência e presença de N, foi maior pela aplicação de Mo (Figura 6). Esse comportamento foi devido a atuação do Mo como potencializador, principalmente da ARN (Figuras 2 e 3, do Capítulo I), mas também da AN na RB867515 (Figuras 2 e 3, do Capítulo II), elevando acúmulo de N pela cana. Ainda, a RB867515 acumulou mais N com adubação nitrogenada, sendo 35 e 57%, respectivamente na ausência e presença da aplicação de Mo. Por outro lado, o acúmulo de N na RB92579 não variou.

A primeira fase do acúmulo de N foi caracterizada por baixos valores, representando 12% do nutriente absorvido em todo o ciclo, tendo ocorrido até 89 e 58 DAP, respectivamente na RB867515 e RB92579 (Figura 6). Na RB867515, a aplicação de Mo reduziu e aumentou o tempo de duração da primeira fase, respectivamente na ausência e presença da adubação nitrogenada. Apesar de ter reduzido a duração da primeira fase, a aplicação de Mo aumentou a extração de N em 30%, quando não se aplicou ureia, sendo acumulado 0,20 g planta⁻¹. Com a aplicação de N, o incremento no acúmulo do nutriente foi de 43%.

Com exceção de quando a RB92579 recebeu apenas o N, nas outras combinações de adubação, o período da primeira fase foi menor quando comparada a RB867515 (Figura 6). Independentemente da aplicação do N, a aplicação de Mo aumentou o tempo e o acúmulo de N na primeira de fase, na ausência e presença de N. Esta primeira fase da RB92579 foi aumentada em sete vezes quando se aplicou 60 kg ha⁻¹ de N. Em média, o N acumulado na variedade foi maior em 30% pela adubação molíbdica.

Na segunda fase foram encontrados os maiores acúmulos de N, cerca de 76% do absorvido pela cultura, com duração média de 109 e 176 dias, respectivamente na RB867515 e RB92579 (Figura 6). De modo inverso ao observado na primeira fase, a segunda fase de acúmulo de N da RB867515 foi reduzida apenas com a adubação nitrogenada. Quando não se aplicou N, o Mo prolongou a fase em 40% e reduziu em

16 dias com a fertilização nitrogenada. A aplicação de Mo aumentou o acúmulo de N pela RB867615, em 26 e 45%, respectivamente na ausência e presença de N, atingindo $1,28 \text{ g planta}^{-1}$, no período onde houve maior incremento.

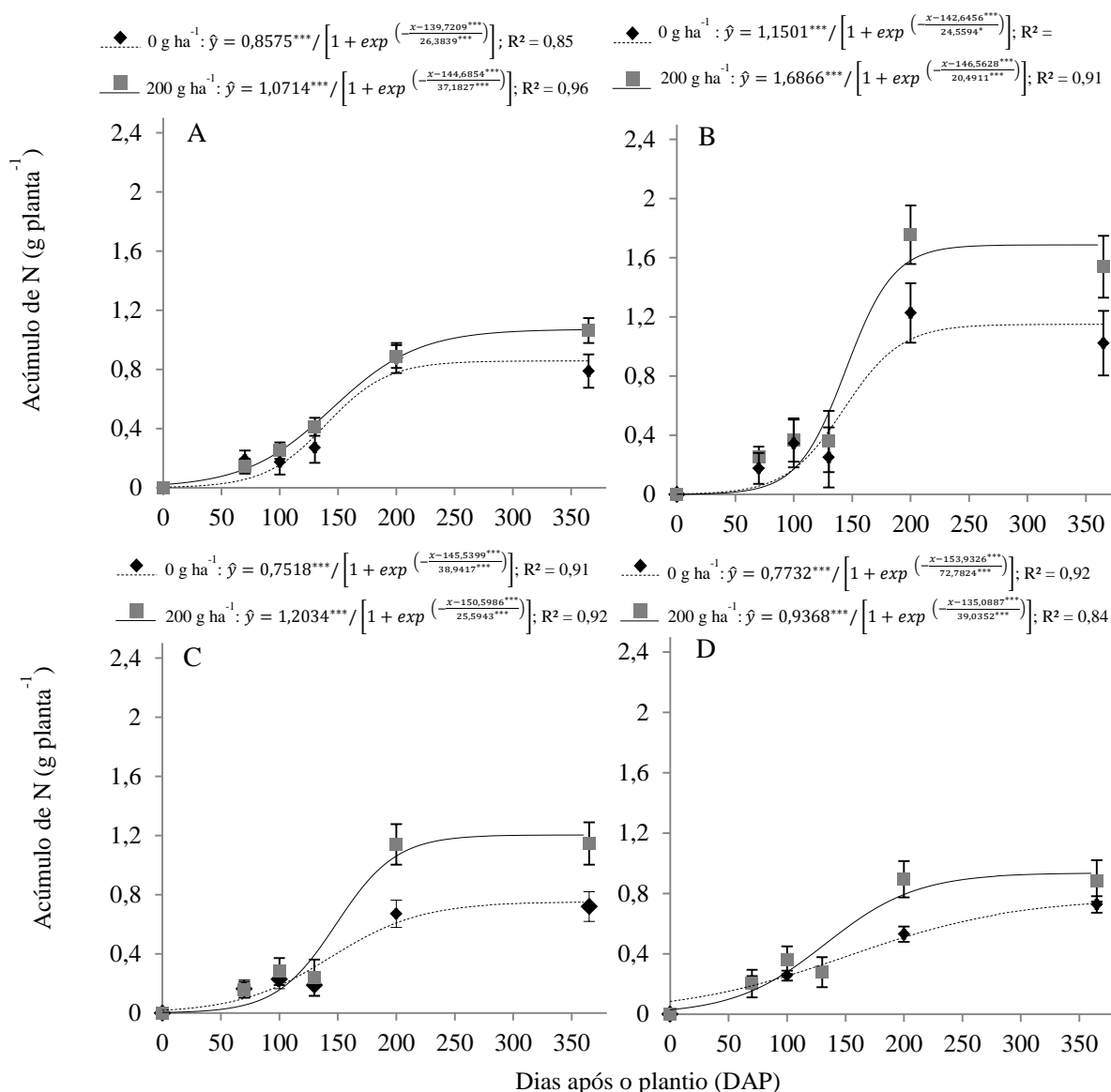


Figura 6. Acúmulo de nitrogênio na parte aérea de cana-de-açúcar na ausência e presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP).

A duração da segunda fase da RB92579 foi maior com a fertilização nitrogenada e foi, em média, de 95 dias. Entretanto, a adubação molíbdica reduziu a fase em 35 e 46%, respectivamente na ausência e presença da aplicação de N. Apesar das reduções de tempo, a aplicação de Mo aumentou os acúmulos de N nesta fase, que foram 37 e

20% maiores, respectivamente na ausência e presença de N, chegando a ser de $0,78 \text{ g planta}^{-1}$, com a adubação conjunta dos nutrientes.

O N reduziu a duração da segunda fase e aumentou o acúmulo de MSPA na RB867515, enquanto o aumento do acúmulo na RB92579 foi acompanhado pelo aumento da fase, permitindo sugerir que a fertilização nitrogenada reduziu o ciclo da RB867515. No entanto, a aplicação de N elevou o seu acúmulo nessa fase em ambas as variedades, sendo a sua taxa potencializada pela aplicação do Mo.

A terceira fase de acúmulo de N foi iniciada aos 197 e 254 DAP, respectivamente na RB867515 e RB92579, e representou 12% do absorvido (Figura 6). O Mo reduziu o tempo de duração da terceira fase da RB867515 em 15%, apenas na ausência da adubação nitrogenada. Contudo, independente da aplicação de N, seu acúmulo aumentou com a aplicação de Mo, chegando a ser incrementado em 43% com a dose 60 kg ha^{-1} de N.

Na terceira fase da RB92579, se observaram períodos mais curtos e mais longos com, respectivamente aplicação de N e de Mo. Desta forma, a adubação molíbdica proporcionou acréscimos de 30% no acúmulo de N (Figura 6). O Mo aumentou a duração da terceira fase, porque ele reduziu o tempo da segunda, indicando antecipação da absorção do N requerido pela variedade com a adubação molíbdica, ou seja, o Mo potencializou a assimilação de N, levando ao mais rápido suprimento de suas exigências.

Os resultados observados por Oliveira (2012) corroboram os encontrados neste trabalho. De acordo com o autor, os componentes da parte aérea apresentaram tendência positiva de extração de N pela aplicação de doses crescentes de Mo. Entretanto, ressalta-se que os maiores incrementos foram observados quando se compara a RB92579 cultivada sem adubação molíbdica com a que recebeu 200 g ha^{-1} de Mo, chegando a ser de 135% no componente folhas.

A adubação molíbdica também elevou o acúmulo de N na RB72454 cultivada em Campos dos Goytacazes (POLIDORO, 2001). Segundo Polidoro (2001) a aplicação de até 200 g ha^{-1} de Mo elevou o acúmulo de N na parte aérea da cana, em qualquer das três doses de N aplicadas, que foram de 0; 60; e 120 kg ha^{-1} de N.

O aumento e/ou antecipação do acúmulo de N pelas variedades devido à aplicação de Mo foi devido a sua função como ativador da enzima redutase do nitrato. Em ambas as variedades, tanto nas folhas quanto nas raízes, a ARN foi potencializada pela fertilização com Mo (Figuras 2 e 3, do Capítulo I), e desta forma, aumentou a absorção/assimilação de N-NO_3^- , tanto na presença quanto na ausência da adubação

nitrogenada. Desse modo, esses resultados comprovaram a importância da adoção da prática da adubação molíbdica para o aumento da absorção de N pela cana-de-açúcar.

Conclusões

A adubação nitrogenada elevou o acúmulo e a produção de matéria seca da parte aérea (MSPA) das variedades de cana-de-açúcar, principalmente quando a RB92579 não foi fertilizada com Mo;

O acúmulo e a produção de MSPA das variedades de cana-de-açúcar RB867515 e RB92579 apresentaram respostas diferentes à aplicação de Mo na ausência da adubação nitrogenada, sendo que a RB92579 produziu mais matéria seca na presença de Mo;

A adubação molíbdica elevou o acúmulo de Mo na RB867515 adubada com N, enquanto que na RB92579 este efeito só aconteceu na ausência da fertilização nitrogenada, evidenciando a especificidade varietal quanto ao uso de Mo;

A aplicação de Mo elevou o acúmulo de N das variedades, independente da adubação nitrogenada, indicando-se a adubação molíbdica como prática do manejo nutricional da cultura.

Referências bibliográficas

- ALVAREZ, V. V. H.; NOVAIS, R. F.; DIAS, L. E.; OLIVEIRA, J. A. **Determinação e uso do fosforo remanescente**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. p. 27-33. (Boletim Informativo, 25).
- AZEREDO, D. F.; BOLSANELLO, J.; WEBWE, H.; VIEIRA, J. R. Nitrogênio em cana-planta doses e fracionamento. **STAB, Açúcar, álcool e subprodutos**, Piracicaba, v. 4, n. 5, p. 25-29, 1986.
- BARBOSA, G. V. S. et al. **Três novas variedades RB de cana-de-açúcar**: Boletim técnico PMGCA. Rio Largo: [s.n.].
- BARBOSA, M. H. P. et al. RB867515 Sugarcane cultivar. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 1, n. 4, p. 437–438, 2001.
- BELTÃO, B. A. et al. **Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea - Estado de Pernambuco: Diagnóstico do município de Carpina**. [s.l.] CPRM - Serviço Geológico do Brasil, 2005. p. 11
- BODDEY, R. M. et al. Endophytic nitrogen fixation in sugarcane: present knowledge and future applications. **Plant and Soil**, v. 252, n. 1, p. 139–149, maio 2003.
- BOLOGNA-CAMPBELL, I. **Balanço de nitrogênio e enxofre no sistema solo-cana-de-açúcar no ciclo de cana-planta**. [s.l.] Universidade de São Paulo - Piracicaba, 2007.

- BOUWMAN, A. F.; DRECHT, G. VAN; HOEK, K. W. VAN DER. Surface N balances and reactive N loss to the environment from global intensive agricultural production systems for the period 1970 — 2030. **Science in China Series C Life Sciences**, v. 48, p. 1–13, 2005.
- BRENNAN, R. F.; BOLLAND, M. D. A. Increased Concentration of Molybdenum in Sown Wheat Seed Decreases Grain Yield Responses to Applied Molybdenum Fertilizer in Naturally Acidic Sandplain Soils. **Journal of Plant Nutrition**, v. 30, n. 12, p. 2005–2019, 3 dez. 2007.
- CHAPOLA ET AL., R. G. **Censo varietal 2012**. Araras: CCA-UFSCar, 2012. p. 55
- EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa, 1997. p. 212
- EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes** / editor técnico, Fábio Cesar da Silva. - 2. ed. rev. ampl. - Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 627 p., 2009.
- FAOSTAT - Food and Agriculture Organization of the United Nations, Statistics Division. **Browse Data**. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. Acesso em 03/11/2014.
- FITRI, N. et al. Molybdenum Speciation in Raw Phloem Sap of Castor Bean. **Analytical Letters**, v. 41, n. 10, p. 1773–1784, 16 jul. 2008.
- FRANCO, H. C. J. et al. Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer under Brazilian field conditions. **Field Crops Research**, v. 121, n. 1, p. 29–41, fev. 2011.
- HERNANDEZ, J. A et al. Metal trafficking for nitrogen fixation: NifQ donates molybdenum to NifEN/NifH for the biosynthesis of the nitrogenase FeMo-cofactor. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 33, p. 11679–84, 19 ago. 2008.
- HIREL, B. et al. Improving Nitrogen Use Efficiency in Crops for Sustainable Agriculture. **Sustainability**, v. 3, n. 12, p. 1452–1485, 7 set. 2011.
- JADOSKI, C. J. et al. Fisiologia do desenvolvimento do estágio vegetativo da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.). **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v. 3, n. 2, p. 169–176, 2010.
- KAISER, B. N. et al. The Role of Molybdenum in Agricultural Plant Production. **Annals of Botany**, v. 96, p. 745–754, 2005.
- LIMA NETO, J. F. et al. Avaliação agroindustrial e parâmetros genéticos de clones UFRPE de cana-de-açúcar no litoral norte de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 18, n. 1, p. 8–13, 2013.

- LI-PING, W.; YANG-RUI, L.; LI-TAO, Y. Effects of Molybdenum on Nitrogen Metabolism of Sugarcane. **Sugar Tech**, v. 9, n. 1, p. 36–42, 2007a.
- LI-PING, W.; YANG-RUI, L.; LI-TAO, Y. Effects of molybdenum on nitrogenase activity of nitrogen-fixing bacteria in sugarcane.pdf. **Plant Nutrition and Fertilizer Science**, v. 13, n. 1, p. 110–122, 2007b.
- MORAES, L. M. DE F. et al. Redistribuição de molibdênio aplicado via foliar em diferentes épocas na cultura da soja. **Ciência Agrotécnica**, v. 32, n. 5, p. 1496–1502, 2008.
- OLIVEIRA, A. C. DE. **Interação da adubação nitrogenada e molíbdica em cana-de-açúcar**. [s.l.] Universidade Federal Rural de Pernambuco - Recife, 2012.
- OLIVEIRA, E. C. A. DE et al. Extração e exportação de nutrientes por variedades de cana-de-açúcar cultivadas sob irrigação plena. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 4, p. 1343–1352, 2010.
- OLIVEIRA, E. C. A. DE et al. Acúmulo e alocação de nutrientes em cana-de-açúcar. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 3, p. 579–588, 2011a.
- OLIVEIRA, E. C. A. DE et al. Produtividade, eficiência de uso da água e qualidade tecnológica de cana-de-açúcar submetida a diferentes regimes hídricos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 446, n. 6, p. 617–625, 2011b.
- OLIVEIRA, E. C. A. DE et al. Determining a critical nitrogen dilution curve for sugarcane. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 176, p. 712–723, 30 ago. 2013.
- OTTO, R. et al. Fitomassa de raízes e da parte aérea da cana-de-açúcar relacionada à adubação nitrogenada de plantio. **Pesquisa**, v. 44, n. 4, p. 398–405, 2009.
- POLIDORO, J. C. **O molibdênio na nutrição nitrogenada e na contribuição da fixação biológica de nitrogênio associada a cultura da cana-de-açúcar**. [s.l.] Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - Seropédica, 2001.
- RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ VENEGAS, V. H. (ED.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5. Aproximação**. Viçosa: Comissão de fertilidade do solo do estado de Minas Gerais, 1999. p. 359
- ROBINSON, N. et al. Nitrate paradigm does not hold up for sugarcane. **PLoS one**, v. 6, n. 4, p. e19045, jan. 2011.
- SANTOS, M. M. et al. Épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura na cultura do milho em plantio direto, e alocação do nitrogênio (¹⁵N) na planta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 1, p. 1185–1194, 2010.

- SANTOS, V. R. et al. Crescimento e produtividade agrícola de cana-de-açúcar em diferentes fontes de fósforo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 13, n. 4, p. 389–396, 2009.
- SHEARER, G.; KOHL, D. H. N₂-Fixation in Field Settings: Estimations Based on Natural ¹⁵N Abundance. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 13, p. 699–756, 1986.
- SIMÕES NETO, D. E. et al. Níveis críticos de fósforo em solos cultivados com cana-de-açúcar em Pernambuco. **Revista Ceres**, v. 58, n. 6, p. 802–810, 2011.
- TAULÉ, C. et al. The contribution of nitrogen fixation to sugarcane (*Saccharum officinarum* L.), and the identification and characterization of part of the associated diazotrophic bacterial community. **Plant and Soil**, v. 356, n. 1-2, p. 35–49, 26 out. 2011.
- TEDESCO, M.J. , et al. **Análises de solos, plantas e outros materiais**. 2^aed. Porto Alegre, UFRGS. 1995. 174p. (Boletim Técnico, 5).
- VALENTINI, L.; COELHO, F. C.; FERREIRA, M. DOS S. Teor de nitrogênio foliar e produtividade de três cultivares de milho (*Zea mays* L.) submetido as adubações nitrogenada e molíbdica. **Revista Ceres**, v. 52, n. 302, p. 567–577, 2005.
- VENEGAS, J. G.; HARRIS, R. S.; SIMON, B. A. A comprehensive equation for the pulmonary pressure-volume curve. **Journal of Applied Physiology**, v. 84, p. 389–395, 1998.
- WOLFINGER, R.; CHANG, M. **Comparing the SAS ® GLM and MIXED Procedures for Repeated Measures**. Disponível em: <<http://support.sas.com/rnd/app/stat/papers/mixedglm.pdf>>. Acesso em: 26 ago. 2014.

Capítulo IV

Produtividade e qualidade tecnológica de cana-de-açúcar adubada com molibdênio e nitrogênio

Productivity and technological quality of sugar cane nitrogen and molybdenum fertilized

Resumo

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, uma cultura importante para a economia nacional. Devido a isso, anualmente, são selecionados novos genótipos que apresentam aptidão agrícola e tecnológica. Entretanto, para que desenvolvam seu potencial, há necessidade de maior conhecimento de sua nutrição mineral, em especial do N, que apesar de ser muito absorvido pela cultura, apresenta respostas variadas a sua fertilização, principalmente em produtividade de colmos e açúcar. Para aumentar a assimilação do N absorvido do solo pode-se aplicar Mo, por esse micronutriente atuar como regulador da atividade da redutase do nitrato. Além disso, o Mo pode potencializar a atividade da nitrogenase, enzima presente em bactérias que realizam a fixação biológica de N. Assim, a maior disponibilidade de Mo pode aumentar a absorção de N e, conseqüentemente, aumentar a produtividade de colmos e de açúcar da cultura. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a produtividade de colmos e as variáveis tecnológicas em diferentes variedades de cana-de-açúcar adubadas com N e Mo. Para isso, foram cultivadas duas variedades (RB867515 e RB92579), submetidas a duas doses de N (0 e 60 kg ha⁻¹) e duas doses de Mo (0 e 200 g ha⁻¹), compondo arranjo fatorial (2 x 2 x 2). Aos 0, 30, 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP) foram avaliados os teores de Mo disponível no solo nas camadas de 0,0 a 0,2 m e 0,2 a 0,4 m de profundidade. Adicionalmente, aos 365 DAP realizou-se a colheita das variedades e a avaliação da produtividade de colmos (TCH) e pol por hectare (TPH) e as variáveis tecnológicas: pureza, AR, sólidos solúveis, Pol, fibra, PC e ATR. A adubação molibídica promoveu incrementos dos teores de Mo disponível no solo, tanto na camada superficial quanto na subsuperficial. A variedade de cana-de-açúcar RB867515 respondeu a adubação molibídica, tendo sua produtividade de colmos (TCH) e de Pol (TPH) aumentadas com a aplicação de 200 g ha⁻¹ de Mo. A adubação nitrogenada causou efeito deletério em variáveis tecnológicas do caldo e do colmo, como pureza, AR, ATR e PC.

Palavras-chave: *Saccharum* spp., disponibilidade de molibdênio, adubação molibídica, adubação nitrogenada, TCH, TPH.

Abstract

Brazil is the largest producer of sugar cane, which is an important crop for the national economy. Given its economic importance, every year new sugar cane genotypes are selected that present agricultural and technological prowess. However, to fully develop their potential there is a need for a greater understanding of their mineral nutrition, especially those related to N, which despite being well absorbed by this culture show varied results to fertilization, especially in stalk yield and sugar. Mo can be applied to increase the assimilation of N absorbed in the soil as this micronutrient act as a regulator of nitrate reductase activity. Moreover, Mo may potentiate the activity of the nitrogenase enzyme which is found in bacteria that perform the biological N fixation. Thus, increasing the availability of Mo may result in an increase in the absorption of N and consequently increase stalk and sugar productivity. The aim of this study was to evaluate the sugar cane yield and technological parameters in different varieties of sugar cane that were fertilized with both N and Mo. To this aim and under field conditions, two varieties of sugar cane (RB867515 and RB92579) were grown and submitted to two N levels (0 and 60 kg ha⁻¹) and two Mo levels (0 and 200 g ha⁻¹) in a 2 x 2 x 2 factorial design. The Mo content was evaluated in two soil layers (i.e., 0.0 to 0.2 and 0.2 to 0.4 m of depth) at 0, 30, 70, 100, 130, 200 and 365 days after planting (DAP). Additionally, at the 365 DAP the varieties were harvested to evaluate the sugar cane stalk, Pol yield, and the technological variables of purity, AR, soluble solids, Pol, fiber, PC and ATR. The Mo fertilization increased the availability of the Mo in the soil,

both in the surface layer and in the subsurface. The variety of sugar cane RB867515 responded to the Mo applied, and its sugar cane stalk and Pol yield increased with the application of 200 g ha⁻¹ Mo. N fertilization caused deleterious effect on the technological parameters of purity, AR, ATR and PC.

Key words: *Saccharum* spp., availability of the Mo, Mo fertilization, N fertilization, TCH, TPH.

Introdução

A cultura da cana-de-açúcar apresenta importância econômica para o Brasil desde o período colonial, sendo, atualmente, o maior produtor do mundo, responsável por 33% da produção mundial. Deste percentual, mais da metade é proveniente do estado de São Paulo, maior produtor nacional. Pernambuco é apenas o sétimo, considerando a safra 2013/2014 (JADOSKI et al., 2010; CONAB, 2014). De acordo com a Conab (2014), no Brasil, a produção da safra 2013/2014 foi de 658,8 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, registrando aumento de 12% em relação à safra anterior, sendo destinados 45% para a produção de açúcar e 55%, para produção de etanol.

Devido à comprovada importância da cultura para a economia nacional, anualmente, os centros de pesquisa em melhoramento vegetal distribuídos pelo país, vêm selecionando híbridos que apresentam resistência a pragas e doenças, elevadas produtividades, e indicadores de qualidade das variáveis tecnológicas, como: teor de fibra e de açúcar recuperável na cana; pureza, sólidos solúveis, açúcares redutores e percentagem de sacarose aparente no caldo (LIMA NETO et al., 2013). Desta forma, pelo impacto que a nutrição destes híbridos podem causar nestas variáveis, há uma crescente necessidade de maior conhecimento da nutrição desses genótipos, principalmente no que se refere ao N, uma vez que o manejo inadequado de um canavial, principalmente da adubação nitrogenada, pode levar a drásticas reduções de produtividade (VITTI et al., 2007).

O N é um nutriente muito absorvido pela cana-de-açúcar, sendo superado apenas pelo K, e extrai de 94 a 260 kg ha⁻¹ de N, variando com o genótipo (OLIVEIRA et al., 2010). Apesar da elevada absorção de N, as respostas da cultura a fertilização nitrogenada tem sido as mais variadas. Azeredo et al. (1986), em avaliações realizadas em 135 experimentos em diferentes regiões do país, observaram que em 80% dos casos a cana planta não respondeu a adubação nitrogenada. Por outro lado, Oliveira (2012), em estudo realizado em três ambientes de produção no nordeste do Brasil, constatou elevação da produtividade com o aumento da dose de N. Oliveira et al. (2013) observaram variação positiva da MSPA da cultura, como resposta ao aumento da dose de N. Os autores cultivaram a variedade SP813250, com doses de até 120 kg ha⁻¹ de N em três solos, localizados em diferentes áreas produtoras de cana-de-açúcar no estado de São Paulo.

A cana-de-açúcar absorve o N-NH₄⁺ e o N-NO₃⁻ do solo, sendo esta última forma a predominante em solos aerados (ROBINSON et al., 2011). Para a assimilação do N-NO₃⁻, se faz necessário que haja Mo disponível no solo em quantidades adequadas,

uma vez que este micronutriente atua como regulador da enzima responsável pela primeira etapa da redução do NO_3^- a NH_4^+ , a redutase do nitrato (CAMPBELL, 1999; LI-PING et al., 2007). Li-Ping et al. (2007) observaram que a ARN na folha +1 de cana-de-açúcar foi elevada pelo aumento da concentração de Mo na solução nutritiva. O experimento conduzido com as variedades RB72454 e RB7575 em sistema hidropônico com areia, sob quatro doses de Mo (0, 0,01, 0,02 e 0,04 mg L^{-1}). Desta forma, a disponibilidade de Mo afeta diretamente a assimilação de N e, conseqüentemente, a produção de colmos e a qualidade tecnológica da cana.

O Mo é um elemento traço na maioria dos solos, estando presente principalmente como molibdato, forma aniônica, tendo sua disponibilidade influenciada por propriedades químicas e mineralógicas. Entre as características químicas do solo, o pH influencia significativamente a disponibilidade do nutriente, sendo reduzida em solos de elevada acidez (LÓPEZ et al., 2007). A elevação de uma unidade de pH em um solo de pH 3, pode aumentar a disponibilidade de Mo em 100 vezes, sendo desta forma, necessária a correção de solos ácidos para aumentar a sua disponibilidade (KAISER et al., 2005). Uma alternativa a correção da acidez do solo para aumentar o teor de Mo disponível no solo, é realizar a sua fertilização. Em áreas onde a aplicação de calcário era inviável, Brennan & Bolland (2007) observaram que a produtividade de trigo foi elevada com aplicação de Mo em solos com pH médio de 4,3 na Austrália. O incremento na produção de grãos nestes solos só foi obtido com o aumento de até 100% da dose recomendada do micronutriente.

Em relação à mineralogia do solo, a disponibilidade de Mo pode ser reduzida pela presença de óxidos de Fe e de Al (VISTOSO G et al., 2009), o que é comum em solos tropicais.

Além do efeito na ARN, o Mo também regula a atividade da nitrogenase (AN). Essa enzima, presente em algumas bactérias, possibilita a redução do N_2 atmosférico a NH_3 e a sua assimilação pela cana-de-açúcar. Li-Ping et al. (2007a) avaliaram o comportamento da AN em cana-de-açúcar sob o efeito de doses crescentes de Mo. Segundo os autores, apesar da aplicação de Mo elevar a AN, esta variou com o tecido e o genótipo.

Nesse contexto, a escassez ou baixa disponibilidade de Mo no solo pode reduzir a ARN e a AN e, com isso a assimilação de N, levando a redução da produtividade de colmos (FITRI et al., 2008). Dessa forma, acredita-se que a maior disponibilidade de Mo no solo pode elevar o acúmulo de N, a ARN e a AN e, conseqüentemente, a produtividade da cana-de-açúcar.

Assim, neste trabalho objetivou-se avaliar o efeito da adubação nitrogenada e molíbdica nos teores de Mo do solo, na produtividade de colmos e seus impactos nas variáveis agroindustriais de diferentes variedades de cana-de-açúcar, em diferentes estádios de crescimento da cultura.

Material e Métodos

Conduziu-se um experimento em campo na Estação Experimental de Cana-de-açúcar de Carpina (EECAC), no município de Carpina – PE, com coordenadas geográficas 7°51'04'' S e 35°14'27'' W, em um ARGISSOLO VERMELHO AMARELO distrocoeso, de março de 2013 a março de 2014. O município tem altitude de 184 m, com clima predominante As', tropical chuvoso com verão seco, de acordo com o sistema Köppen e temperatura média anual de 24,2 °C (BELTÃO et al., 2005). A precipitação pluvial ocorrida durante o experimento foi de 1.359 mm (Figura 1). Adicionalmente, nos dois primeiros meses após o plantio, foi realizada a aplicação de três lâminas de 25 mm de água.

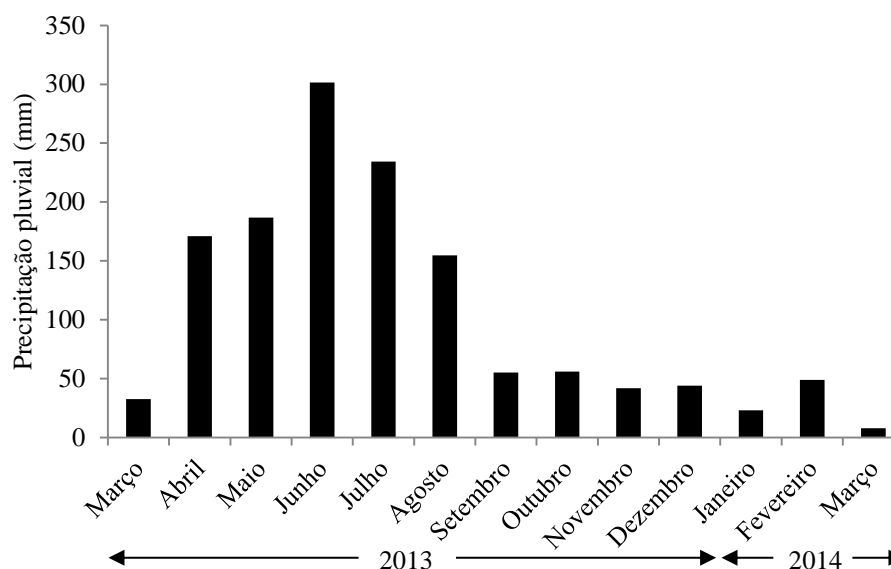


Figura 1. Precipitação pluviométrica durante o ensaio na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, em Carpina – PE.

A caracterização química e física do solo foi realizada em duas profundidades, 0,0 a 0,2 e 0,2 a 0,4 m (Tabela 1), em amostras compostas oriundas da coleta de 15 amostras simples coletadas aleatoriamente. Para caracterização química se determinou o pH (H₂O), Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺, Al³⁺, (H+Al), P, P-rem (P remanescente), Fe, Cu, Zn, Mn, Mo, NH₄⁺, NO₃⁻, δ¹⁵N (abundância natural de ¹⁵N) e COT (carbono orgânico total). O

Ca²⁺, Mg²⁺ e Al³⁺ foram extraídos com KCl 1,0 mol L⁻¹ e dosados por titulometria. O P, K⁺, Na⁺, Fe, Cu, Zn, Mn, e Mo foram extraídos com Mehlich-1, sendo o P e o Mo dosados por espectrofotometria, o K⁺ e Na⁺ por fotometria de chama e o Fe, Cu, Zn e Mn por espectrofotometria de absorção atômica. A acidez potencial (H+Al) foi extraída com acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹ e dosada por titulometria. O COT foi determinado por combustão úmida com dicromato de potássio e dosado por titulometria. Todas as análises foram realizadas conforme metodologias descritas pela EMBRAPA (2009).

Tabela 1. Atributos químicos e físicos do solo em diferentes profundidades na área do ensaio de campo na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina – PE

Atributo	Profundidade (m)	
	0,0 – 0,2	0,2 – 0,4
pH _{água} (1:2,5)	5,2	4,8
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	2,10	1,80
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,50	0,60
K ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,15	0,06
Na ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,04	0,07
Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,50	0,70
(H + Al) (cmol _c dm ⁻³)	5,50	7,50
P (mg dm ⁻³)	19,00	4,00
Fe (mg dm ⁻³)	55,40	41,20
Cu (mg dm ⁻³)	0,10	0,30
Zn (mg dm ⁻³)	2,50	2,40
Mn (mg dm ⁻³)	6,60	5,00
Mo (mg dm ⁻³)	0,14	0,15
COT (g kg ⁻¹) ¹	1,19	1,25
P-rem (mg L ⁻¹) ²	39,57	30,02
NO ₃ ⁻ (mg dm ⁻³)	56,14	65,22
NH ₄ ⁺ (mg dm ⁻³)	20,02	20,64
δ ¹⁵ N (‰) ³	4,72	5,09
CTC _{efetiva} (cmol _c dm ⁻³) ⁴	3,29	3,23
CTC _{potencial} (cmol _c dm ⁻³) ⁵	8,29	10,03
V (%) ⁶	33,66	25,22
m (%) ⁷	15,20	21,67
Areia Total (g kg ⁻¹)	723,00	681,00
Areia Grossa (g kg ⁻¹)	509,80	481,20
Areia Fina (g kg ⁻¹)	213,6	199,40
Silte (g kg ⁻¹)	117,00	80,00
Argila (g kg ⁻¹)	160,00	239,00
Classe Textural	Franco-arenosa	Franco-argilo-arenosa
Ds (kg dm ⁻³) ⁸	1,46	1,41
Dp (kg dm ⁻³) ⁹	2,56	2,47
PT (%) ¹⁰	43,21	42,79
Θ _{CC} (Mg Mg ⁻¹) ¹¹	0,12	0,13
Θ _{PMP} (Mg Mg ⁻¹) ¹²	0,06	0,08

¹Carbono orgânico total; ²Fósforo remanescente; ³Abundância natural de ¹⁵N; ⁴Capacidade de troca de cátions efetiva; ⁵Capacidade de troca de cátions potencial; ⁶Saturação por bases; ⁷Saturação por alumínio; ⁸Densidade do solo; ⁹Densidade de partículas; ¹⁰Porosidade total; ¹¹Umidade na capacidade de campo; ¹²Umidade no ponto de murcha permanente.

Com os resultados destas análises químicas, calculou-se a saturação por bases (V), a saturação por Al (m), a capacidade de troca de cátions efetiva (CTC_{efetiva}) e a capacidade de troca de cátions potencial ($CTC_{\text{potencial}}$).

O P-rem foi determinado por espectrofotometria, em extrato obtido após a amostra de solo ficar em equilíbrio com solução de $CaCl_2$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 60 mg L^{-1} de P, de acordo com Alvarez V. et al. (2000). O NH_4^+ e o NO_3^- foram extraídos com KCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ e dosados por destilação por arraste de vapores pelo método de Kjeldahl, conforme Tedesco et al. (1995). O ^{15}N foi determinado por espectrometria de massa, sendo posteriormente calculado o $\delta^{15}N$, conforme metodologia descrita por Shearer & Kohl (1986).

Fisicamente o solo foi caracterizado pela granulometria, definindo sua classe textural; densidade do solo; densidade das partículas; umidades na capacidade de campo (Θ_{CC}) e no ponto de murcha permanente (Θ_{PMP}); condutividade hidráulica do solo saturado (K_0); e indiretamente, a porosidade total. Todas as análises físicas foram realizadas de acordo com a metodologia proposta pela EMBRAPA (1997).

Foram utilizadas as variedades de cana-de-açúcar RB92579 e RB867515, por serem muito cultivadas no Nordeste e no Brasil, respectivamente (CHAPOLA et al., 2012). O cultivo da cana foi submetido a duas doses de N (0 e 60 kg ha^{-1}) e duas doses de Mo (0 e 200 g ha^{-1}), baseadas no estudo da interação da adubação nitrogenada e molíbdica em cana-de-açúcar desenvolvido por Oliveira (2012), sendo utilizados como fonte de N a ureia e como fonte de Mo o molibdato de sódio. Os fertilizantes foram aplicados em fundação, durante o plantio da cana-de-açúcar. O molibdato de sódio foi diluído em água e aplicado com o auxílio de pulverizador costal.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, em arranjo fatorial de tratamentos ($2 \times 2 \times 2$), em medidas repetidas no tempo, com quatro repetições, totalizando 32 unidades experimentais. Cada parcela foi composta por sete sulcos de 10 m de comprimento, espaçados por um metro, totalizando 70 m^2 . A área útil foi formada pelos cinco sulcos centrais, descartando-se um metro das extremidades, totalizando 40 m^2 . Os dois sulcos localizados nas extremidades da área útil foram utilizados para realização das amostragens destrutivas e os três sulcos centrais para as amostragens não destrutivas.

O experimento foi instalado 40 dias após a aplicação à lanço de $2,2 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário dolomítico (PRNT de 100%) em área total e incorporado até $0,2 \text{ m}$ de profundidade. A necessidade de calagem foi calculada pelo método da saturação por bases (RIBEIRO et al., 1999), estimando uma elevação da saturação para 60%. A

adubação foi realizada em fundação com a aplicação de P e K em todas as parcelas. A adubação fosfatada foi realizada considerando o teor de P disponível e a textura do solo de acordo com Simões Neto et al. (2011), sendo aplicados 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 como superfosfato triplo (40% de P_2O_5). Para o K, a recomendação foi feita com base na expectativa de produção, estimando-se produtividades acima de 100 t ha^{-1} , para tal foi utilizado um valor médio de eficiência de K_2O de $1,4 \text{ kg t}^{-1}$ de cana (OLIVEIRA et al., 2010), sendo aplicados 140 kg ha^{-1} de K_2O , como cloreto de potássio (60% de K_2O).

O plantio das variedades de cana-de-açúcar foi realizado em sulcos de aproximadamente 0,2 m de profundidade, onde foram distribuídos 14 Mg ha^{-1} de colmos com sete meses de idade, dispostos em corrente dupla, de modo que a ponta de um coincida com a base do outro. Posteriormente, os colmos foram seccionados em toletes, havendo uma densidade de 14 gemas por metro, e se procedeu a aplicação dos fertilizantes e fechamento do sulco.

Para determinação dos teores de Mo do solo, durante os diferentes estádios de crescimento da cultura, realizou-se no plantio e aos 30, 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP) coleta de amostras de solo na área útil das parcelas experimentais nas profundidades de 0,0 a 0,2 m e 0,2 a 0,4 m, com auxílio de enxadeco e pá reta. As perfurações para obtenção das amostras foram feitas a aproximadamente 0,25 m de distância da linha de plantio das canas, sendo coletadas três amostras em diagonal por parcela para a formação de uma amostra composta; posteriormente, as amostras de solo coletadas foram secas ao ar, destorroadas e tamisadas em peneira de 2 mm de malha. O Mo foi extraído com Mehlich-1 e dosado por espectrofotometria, conforme EMBRAPA (2009).

Aos 365 DAP, foi realizada a queima da palhada, o corte das canas e a avaliação da produtividade de colmos por hectare (TCH). A variável TCH foi estimada tomando-se como base a produção de colmos na parcela útil, sendo aferida pela pesagem com dinamômetro, em campo. Foram tomados aleatoriamente 10 colmos e enviados ao laboratório da Usina Petribu S/A, no município de Lagoa de Itaenga – PE, para avaliação das variáveis agroindustriais. Para isso, as amostras foram trituradas em forrageira e retiradas subamostras, seguindo a metodologia sugerida pelo CONSECANA (2006). As subamostras foram submetidas à prensa hidráulica por um minuto, sob pressão de 250 kg cm^{-2} , coletando-se o caldo. Nele se determinou: a pureza; os teores de sólidos solúveis totais (°Brix) com refratômetro digital; a percentagem de sacarose aparente no caldo (Pol), com uso de sacarímetro automático; e a percentagem de açúcares redutores (AR).

No colmo foi determinado: a porcentagem de fibras; a porcentagem de sacarose no colmo (PC); e o açúcar teórico recuperável (ATR). As variáveis fibras, Pol, pureza e ATR foram estimadas segundo a metodologia descrita pelo CONSECAN (2006). A produtividade de Pol ou tonelada de Pol por hectare (TPH) foi estimada pela equação: $TPH = TCH \times PC/100$, conforme Lima Neto et al. (2013).

Os teores de Mo na camada superficial e subsuperficial foram avaliadas considerando as variedades de cana, as doses de Mo e de N, como medidas repetidas no tempo. Para isso foi utilizado o pacote estatístico SAS Learning 2.0, seguindo o procedimento para modelo misto, sendo selecionado o teste de covariância [AR(1), Ante (1), ARH (1), ARMA (1), CS, CSH, HF, TOEP, Lin (1), UN] que apresentou o menor valor do critério de Akaike (WOLFINGER & CHANG, 1995). Nas variáveis em que se observaram efeito significativo ($p < 0,05$) foi realizada análise de regressão em função do tempo, sendo selecionando o modelo que melhor representou o fenômeno, com maior valor de coeficiente de determinação (R^2) e significância dos parâmetros até 5% pelo teste de t.

A produtividade de colmos e as variáveis agroindustriais foram avaliadas em função das variedades de cana e das adubações nitrogenada e molíbdica. Esses dados foram submetidos à análise da variância (ANOVA) pelo teste F ($p \leq 0,05$). Nas variáveis cujos efeitos principais e/ou interação foram significativos, aplicou-se o teste de comparação de médias de Tukey ($p \leq 0,05$).

Resultados e discussão

Os dados do teor de Mo na camada superficial do solo onde se cultivaram as variedades de cana-de-açúcar adubadas com Mo e N, se ajustaram ao modelo de pico, exceto quando a RB92579 recebeu também a fertilização nitrogenada, se ajustando a modelo linear; quando não se aplicou Mo, os dados de seu teor no solo se ajustaram a modelo quadrático, em ambas as variedades, na ausência e presença de N (Figura 2). Entretanto, em todos os modelos se observou que os teores de Mo no solo se reduziram com o tempo, principalmente depois de 30 DAP, indicando absorção do micronutriente pela cultura.

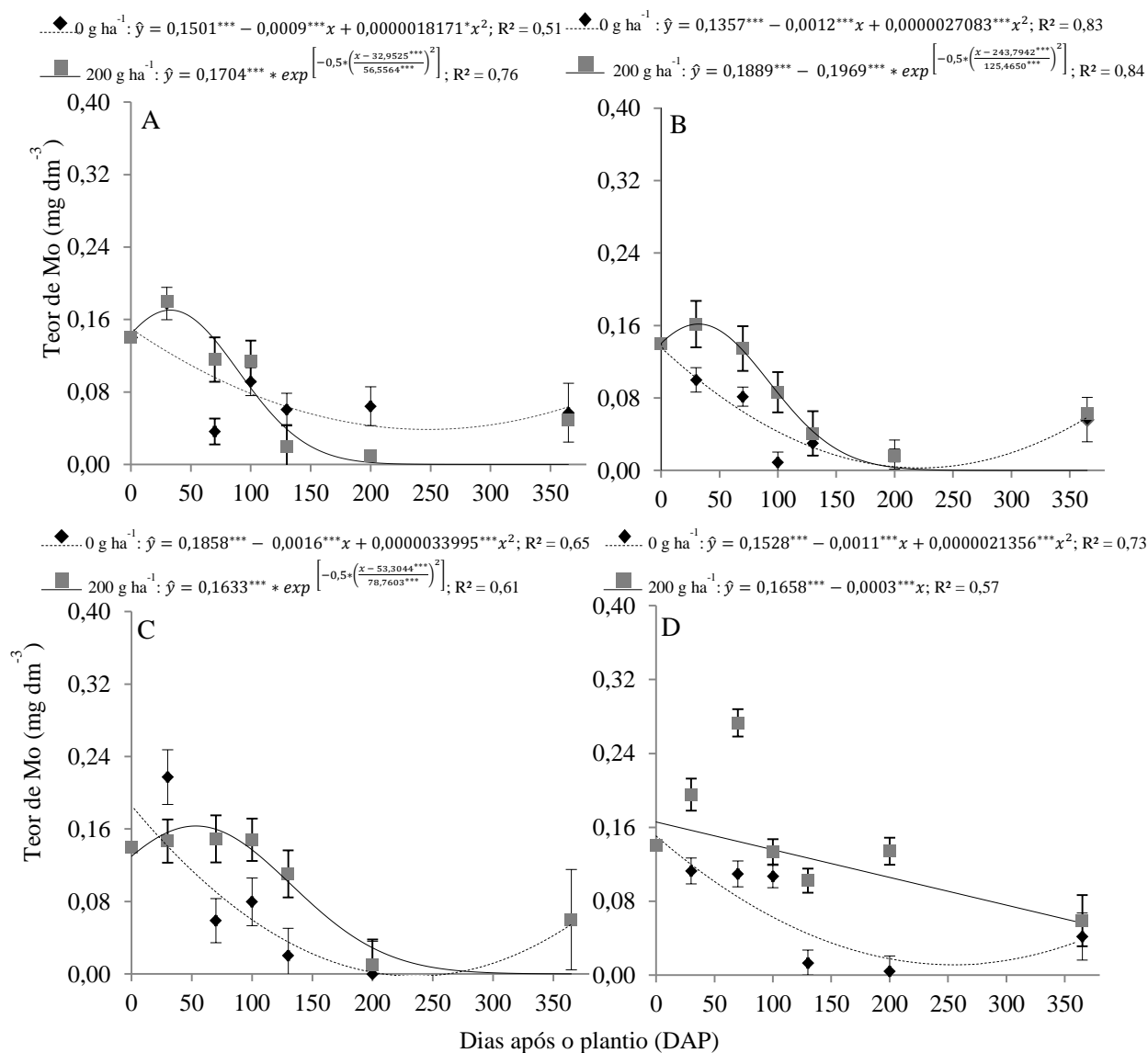


Figura 2. Teor de Mo no solo na camada de 0 a 0,2 m de profundidade cultivado com cana-de-açúcar na ausência e na presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP).

No solo onde se cultivou a RB867515, a aplicação de N reduziu o teor de Mo na camada superficial apenas na ausência da adubação molíbdica. Quando o solo foi a única fonte de Mo para os genótipos, ambos os comportamentos se ajustaram a modelo quadrático decrescente, contudo, apresentaram valores de mínimo diferentes. O teor de Mo no solo, deve ter sido tão baixo, quando a variedade foi adubada com N aos 222 DAP, que não foram detectados pelo método de determinação utilizado, enquanto que o menor valor na condição de baixa disponibilidade de N foi de 0,04 mg dm⁻³.

Entretanto, depois de atingirem os mínimos valores, o teor de Mo se elevou até o final do ciclo da cultura.

No cultivo da RB92579 na ausência da adubação molíbdica, o teor de Mo no solo apresentou comportamento inverso a RB867515, em que os mais baixos teores aconteceram na menor disponibilidade de N, contudo, em ambas as situações, os teores de Mo devem ter sido tão baixos que não foram detectados pelo método de determinação utilizado. Os teores de Mo foram mínimos aos 190 e 260 DAP, respectivamente na ausência e presença da aplicação de N. Quando a variedade foi adubada com Mo, a redução do teor de Mo foi mais acentuada com a aplicação de N, não sendo constatada a elevação inicial. Apesar de se observar nos dados linearidade decrescente do teor de Mo com a aplicação dos dois nutrientes, o menor valor foi de $0,06 \text{ mg dm}^{-3}$, aos 365 DAP, e não detectado, aos 260 DAP, quando a RB92579 recebeu apenas a fertilização molíbdica.

Otto et al. (2009) avaliaram a fitomassa de raízes na variedade SP813250 em resposta a adubação nitrogenada, no estado de São Paulo. Segundo os autores, a aplicação de N no plantio incrementou o crescimento das raízes e da parte aérea da cana-planta em Latossolo Vermelho-Amarelo eutrófico. Desse modo, o aumento da biomassa radicular pela adubação nitrogenada pode levar a maior absorção de Mo.

A redução do teor de Mo na camada superficial onde se cultivou a RB867515 pela adubação nitrogenada, na ausência da aplicação de Mo, se deu por sua maior absorção. Como a adubação nitrogenada na RB867515 promoveu incremento na MSPA (Figura 2A e B, do Capítulo III) e maior acúmulo de Mo (Figura 5A e B, do Capítulo III), o teor do micronutriente na camada superficial do solo foi menor. Assim, como se observou na RB867515, era de se esperar que a aplicação de N, na ausência e presença de Mo, reduzisse mais os teores do micronutriente na camada superficial, entretanto, é possível que a RB92579 tenha expandido seu sistema radicular com essa fertilização e absorvido mais Mo da camada subsuperficial.

Os teores de Mo na camada superficial do solo onde se cultivaram os genótipos de cana-de-açúcar se elevaram com a sua fertilização até 30 DAP, independentemente da adubação nitrogenada, posteriormente, se reduziram atingindo um teor mínimo e depois tenderam a aumentar, exceto quando a RB92579 foi adubada com N e Mo (Figura 2). O incremento na concentração de Mo foi de 21% quando a RB867515 foi cultivada sem adubo nitrogenado. Quando não se adubou com Mo, os seus teores se reduziram desde o início da adubação.

Santos (2012) avaliou a capacidade de quatro soluções em extrair o Mo disponível em três diferentes solos de áreas produtoras de cana-de-açúcar, nos estados de Pernambuco e Paraíba. Segundo o autor, a aplicação de doses de até 1.600 g ha⁻¹ de Mo promoveram incrementos lineares em seu teor disponível extraído com Mehlich-1, mesmo extrator utilizado neste trabalho (EMBRAPA, 2009).

Como a adubação molíbdica foi realizada no plantio, 30 dias após a aplicação foi observado incremento nos teores de Mo do solo, porque, de acordo com Jadoski et al. (2010), durante esse período não há crescimento radicular significativo, ou seja, há pouca ou mesmo não há absorção de Mo disponível do solo neste período. Aproximadamente 30 DAP da cana-de-açúcar se dá o início da brotação das gemas e emissão dos primórdios radiculares, em que as plantas se utilizam das reservas do colmo para satisfazer suas exigências nutricionais (JADOSKI et al., 2010). Entretanto, as raízes formadas a partir deste período já absorvem nutrientes, inclusive o Mo, que tem relação direta com a assimilação do N-NO₃⁻, por ser regulador da enzima redutase do nitrato (CAMPBELL, 1999), e por isso se observou declínio dos teores de Mo no solo.

Por outro lado, quando não se adubou com Mo, foi observada redução quadrática de seus teores no solo, logo após o plantio (Figura 2). Na ausência da adubação molíbdica não houve incrementos de Mo no solo ao longo do ciclo da cultura, sendo absorvido pelas canas o estoque naturalmente disponível no solo.

As reduções acentuadas dos teores de Mo do solo indicaram seu maior consumo pelas variedades, que se sobrepõem a fase de maior acúmulo de MSPA, N e Mo, que é a segunda fase da curva de crescimento (Figuras 4, 5 e 6, do Capítulo III). A absorção de Mo pelas variedades de cana-de-açúcar se deve principalmente pelo seu papel como ativador da redutase do nitrato, pois de 40 a 120 DAP, acontece a fase de perfilhamento e aos 120 DAP, se inicia a fase de crescimento da parte aérea (Figura 2, do Capítulo III), onde ocorre a formação e alongamento dos colmos, indo até os 270 DAP (JADOSKI et al., 2010). Nessas duas fases há elevada absorção de N pela cana, sendo a segunda fase responsável pelo maior acúmulo do nutriente (SILVEIRA & CROCOMO, 1990). Assim, considerando que há predomínio de NO₃⁻ em detrimento de NH₄⁺ nos solos aerados, as canas absorveram o Mo para utilizá-lo na assimilação do N-NO₃⁻, reduzindo os teores do micronutriente no solo (ARMAS et al., 1992; ROBINSON et al., 2011). Contudo, como a maior absorção de Mo aconteceu até 250 DAP em ambas as variedades e combinações de adubação (Figura 5, do Capítulo III), o teor do

micronutriente se elevou na camada superficial devido a sua absorção pelos genótipos ter cessado ou reduzido e pela a mineralização da matéria orgânica do solo.

Na camada subsuperficial (0,2 a 0,4 m de profundidade), o comportamento dos dados dos teores de Mo foi semelhante ao da camada superficial, com incrementos após a adubação molíbdica, seguido de declínio, enquanto que na ausência desta adubação só foi observado a redução dos teores durante o ciclo de cana planta (Figura 3). Entretanto, na camada subsuperficial os teores de Mo e seus incrementos foram maiores com a sua suplementação, principalmente quando as variedades de cana-de-açúcar não foram adubadas com N. No cultivo da RB867515 na ausência da adubação nitrogenada, o incremento no teor de Mo do solo foi de $0,17 \text{ mg dm}^{-3}$ de Mo e de apenas $0,05 \text{ mg dm}^{-3}$ de Mo na camada superficial. Os maiores incrementos de Mo na camada subsuperficial provavelmente aconteceram devido ao modo de aplicação do molibdato de sódio, no fundo do sulco, ou seja, aproximadamente a 0,2 m de profundidade. Em relação à redução do teor de Mo nesta camada, se observou que foi mais intensa, ocorrendo antes e em menor tempo que na camada superficial.

A redução do teor de Mo na camada subsuperficial do solo pela fertilização nitrogenada foi mais intensa, principalmente com a adubação molíbdica. Em ambas as variedades adubadas com Mo, a aplicação de N reduziu o teor de Mo na ordem de 40%. Quando não se adubou com Mo, aplicação de N diferenciou os teores de Mo apenas com no cultivo da RB92579. Nesta situação, a aplicação de N promoveu a redução mais rápida de Mo na camada subsuperficial, alcançando a estabilização em $0,05 \text{ mg dm}^{-3}$ de Mo, aos 160 e 52 DAP, respectivamente na ausência e presença da adubação nitrogenada.

O teor de Mo do solo na camada subsuperficial foi mais elevado em função da sua fertilização, independentemente da aplicação de N e da variedade cultivada. Diferentemente da camada superficial onde se observaram que os teores de Mo tenderam a zero. Na camada subsuperficial, os teores foram mais altos, com os valores mínimos se situando em $0,03 \text{ mg dm}^{-3}$ de Mo.

Os maiores teores e incrementos de Mo com a sua fertilização na camada subsuperficial em relação a camada superficial, provavelmente ocorreu devido a forma de aplicação do Mo, por pulverização do colmo e seu plantio no fundo do sulco, e pela maior densidade de cargas positivas para adsorver o ânion molibdato, indicada pelo maior teor de argila, representando incremento de 49%.

Como os toletes de cana-de-açúcar junto com a adubação nitrogenada foram colocados em sulcos de 0,2 m de profundidade no plantio e logo depois ocorreram

elevadas precipitações pluviométrica (Figura 1), a absorção de Mo inicialmente foi mais intensa na camada subsuperficial. Adicionalmente, é possível que a adubação nitrogenada tenha estimulado o sistema radicular das variedades de cana-de-açúcar para a camada subsuperficial, como sugerido anteriormente, levando a maior absorção de Mo nesta camada em relação a mais superficial, ocasionando reduções mais intensas em seus teores.

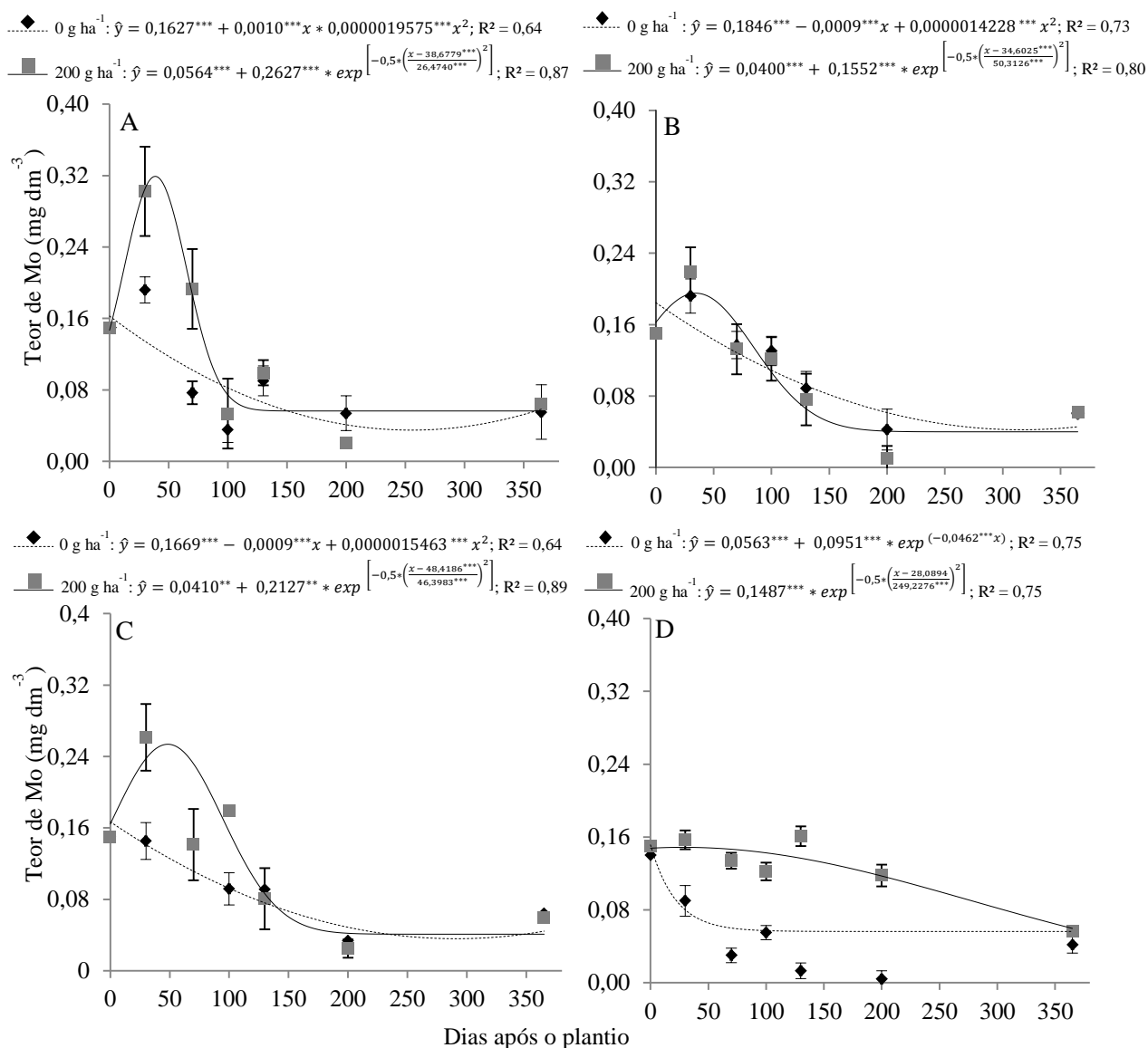


Figura 3. Teor de Mo no solo na camada de 0,2 a 0,4 m de profundidade cultivado com cana-de-açúcar na ausência e na presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP).

A produtividade de colmos (TCH) e de Pol (TPH) pelos genótipos de cana foi dependente da adubação molíbdica, tendo o mesmo comportamento em ambas as variáveis (Tabela 2). Quando se avalia o efeito das doses de Mo em cada variedade, se constata que apenas a RB867515 respondeu positivamente a adubação molíbdica, sendo observados incrementos nos valores de TCH e TPH da ordem de 21%.

Tabela 2. Produtividade de colmos (TCH) e de Pol (TPH) de diferentes variedades de cana-de-açúcar submetidas a aplicação de N e de Mo aos 365 dias após o plantio (DAP)

Fator	TCH			TPH		
	Mo (g ha ⁻¹)		Média	Mo (g ha ⁻¹)		Média
	0	200		0	200	
Variedade	----- Mg ha ⁻¹ -----					
RB867515	52,96 Ab	64,02 Aa	58,49	9,32 Ab	11,32 Aa	10,32
RB92579	48,04 Aa	47,78 Ba	47,91	8,37 Aa	8,60 Ba	8,48
Média	50,50	55,90		8,84	9,96	
		F		F		
Variedade		16,73 ***		21,26 ***		
Mo		4,37 *		7,20 *		
N		2,75 ns		0,22 ns		
Mo*N		1,58 ns		2,71 ns		
Var*Mo		4,80 *		4,60 *		
Var*N		0,13 ns		0,03 ns		
Var*Mo*N		0,64 ns		2,36 ns		
CV (%)		13,5		5,9		

Letras minúsculas iguais na linha e maiúsculas na coluna não diferem pelo teste de Tukey; ns não significativo; *, **, *** significativos, respectivamente, aos níveis de 5%, 1% e 0,1%, de probabilidade.

Comparando os valores de TCH e TPH das variedades na ausência e presença de Mo, se observou que na ausência da adubação não houve diferença nas produtividades. Entretanto, com a aplicação de 200 g ha⁻¹ de Mo, as produtividades de colmos e Pol na RB867515 foram maiores, em cerca de, respectivamente 34% e 32%. Esses resultados permitem recomendar a adubação molíbdica no cultivo da RB867515, independentemente da dose de N aplicada, para promover incrementos na produção de colmos.

O número de publicações que avaliaram a produtividade de colmos de variedades de cana-de-açúcar sob o efeito da adubação molíbdica é pequeno (POLIDORO, 2001; OLIVEIRA, 2012) e apresentaram resultados controversos. Oliveira (2012) não encontrou efeito significativo da adubação molíbdica em TCH. Entretanto, Polidoro

(2001) obteve aumento de 25% na produtividade de colmos apenas pela aplicação de 400 g ha⁻¹ de Mo, corroborando o resultado deste trabalho.

Os valores de TCH encontrados neste trabalho foram baixos quando comparados com os observados por Oliveira et al. (2011). Segundo os autores, no ciclo de cana planta em cultivo de sequeiro, como neste trabalho, a produtividade da RB867515 e RB92579 situaram-se em torno de 90 Mg ha⁻¹. A reduzida produtividade por ambas as variedades atribuiu-se a baixa qualidade das gemas utilizadas no plantio e a competição com ervas espontâneas nos dois primeiros meses de cultivo, uma vez que não se aplicou herbicida, por seu possível efeito negativo na população de bactérias fixadoras de N (KUCEY et al., 1988). De acordo com Jadoski et al. (2010), a competição com ervas espontâneas podem reduzir de três a quatro vezes o número de colmos por metro e de seis a sete vezes a produtividade. Se o herbicida afeta ou não a FBN não se sabe, não há relatos na literatura que descrevam esse efeito, no entanto, se isso ocorrer, no manejo da cana inoculada com bactérias fixadoras de N, deve-se considerar a capina manual como prática, o que certamente, impactará nos custos de cultivo.

Entretanto, as produtividades de colmos apresentadas pelas variedades de cana-de-açúcar neste trabalho, ainda que baixas, foram maiores que a média de alguns estados do nordeste brasileiro (CONAB, 2014). O valor de TCH da RB867515 foi maior que a média dos estados do Maranhão, Piauí, Rio Grande do Norte, Pernambuco, Paraíba, Alagoas e Sergipe; enquanto que a TCH da RB92579 foi maior apenas que a média dos estados do Rio Grande do Norte e da Paraíba. É bom salientar que essa comparação deve levar em conta que no caso deste trabalho a produtividade de colmos é da cana planta, enquanto que nos estados referidos a média do cultivo considera todos os cortes e não apenas da cana planta, que geralmente é mais produtiva.

Como a adubação molíbdica aumentou os teores de Mo disponível no solo (Figuras 2 e 3), a RB867515 o absorveu mais (Figura 5A e B, do Capítulo III) e estimulou a extração de N (Figura 6A e B, do Capítulo III), seja pelo aumento da assimilação de $N-NO_3^-$, por atuar como ativador da redutase do nitrato (Figuras 2 e 3, do Capítulo I), e/ou por potencializar a FBN, pela participação na enzima bacteriana responsável pela redução do N_2 a NH_3 , a nitrogenase (Figura 2A e B, do Capítulo II), o que elevou a produtividade de colmos e de Pol.

A falta de resposta em TCH pela adubação nitrogenada no ciclo de cana planta é um fato comum na literatura, que pode ser devido a maior fonte do N absorvido não ter origem mineral (FRANCO et al., 2011), contudo existem estudos que mostraram resultados antagônicos. Franco et al. (2011) ao avaliarem a biomassa aérea em resposta

a adubação nitrogenada no ciclo de cana planta, observaram que a aplicação de até 120 kg ha⁻¹ de N não promoveu incrementos na SP813250, quando cultivada em Pirassununga – SP. Entretanto, quando a mesma variedade foi cultivada em Jaboticabal – SP foi observado aumento de biomassa até a dose de 80 kg ha⁻¹ de N.

Em avaliações realizadas em 135 experimentos em diferentes regiões do país, Azeredo et al. (1986) observaram que em 80% dos casos a cana planta não respondeu a adubação nitrogenada. Por outro lado, Oliveira (2012), em estudo realizado em três ambientes, nos estados de Pernambuco e Paraíba, constatou variação positiva na produtividade de colmos da RB92579, como resposta ao aumento da dose de N.

A pureza do caldo das canas se apresentou variável com os tratamentos, tendo redução de 3% pela aplicação de N (Tabela 3). No entanto, esses valores, mesmo reduzidos pela adubação nitrogenada, não foram inferiores a indicação do CONSECANA (2006). De acordo com essas normas de qualidade, as unidades industriais podem recusar o carregamento da cana quando a pureza for < 75%.

Os valores de AR variaram pela adubação molíbdica e pelo efeito sinérgico entre a aplicação de N e os genótipos de cana (Tabela 3). A aplicação de 200 g ha⁻¹ de Mo causou efeito deletério no AR, reduzindo os seus valores em 24%. Quando se avalia o efeito da adubação nitrogenada em cada variedade de cana, se constata que apenas na RB867515 o AR foi alterado, sendo reduzido em 50%. Não houve diferença entre os valores de AR entre as canas na ausência ou presença de N. Tasso Júnior et al. (2007) avaliaram o efeito de diferentes combinações de adubação orgânica e mineral na SP813250 cultivada no município de Pontal – SP. Segundo os autores, os valores de AR foram de 0,31% com a aplicação de 120 kg ha⁻¹ de N, que são próximos aos observados neste trabalho.

Não foram observadas diferenças nos valores de sólidos solúveis e de Pol entre as variedades de cana e com a aplicação dos fertilizantes (Tabela 3). Andrade et al. (2000) ao avaliar o efeito de diferentes doses de aquamônia e de ureia nos valores de sólidos solúveis e de Pol na variedade SP79-2233, cultivada em Latossolo Vermelho Escuro, no município de Pirassununga – SP, também não encontraram diferenças nestas variáveis agroindustriais com a aplicação de doses de até 200 kg ha⁻¹ de N.

Os valores de sólidos solúveis e de Pol neste trabalho foram semelhantes aos observados por Oliveira et al. (2011). Segundo os autores, esses valores de sólidos solúveis na RB867515 e na RB92579 foram, em média, de 21,3%, enquanto que o de Pol foi de 18,5%.

Tabela 3. Pureza, açúcares redutores (AR), sólidos solúveis e percentagem de sacarose aparente no caldo (Pol) de diferentes variedades de cana-de-açúcar submetidas a aplicação de N e de Mo aos 365 dias após o plantio (DAP)

Fator	Pureza			AR			Sólidos solúveis			Pol		
	N (kg ha ⁻¹)		Média	N (kg ha ⁻¹)		Média	N (kg ha ⁻¹)		Média	N (kg ha ⁻¹)		Média
	0	60		0	60		0	60		0	60	
Variedade	----- % -----			-----			----- °Brix -----			----- % -----		
RB867515	92,01	88,56	90,28	0,25 Ab	0,50 Aa	0,37	22,14	22,00	22,07	20,37	19,49	19,93
RB92579	91,41	89,48	90,44	0,36 Aa	0,39 Aa	0,37	21,92	22,26	22,09	20,06	19,91	19,98
Média	91,71 a	89,02 b		0,30	0,44		22,03	22,13		20,22	19,70	
Mo (g ha ⁻¹)												
0		90,30			0,41 A			21,83			19,72	
200		90,43			0,33 B			22,33			20,19	
Média		90,36			0,37			22,08			19,95	
		F			F			F			F	
Variedade		0,04 ^{ns}			0,03 ^{ns}			0,01 ^{ns}			0,02 ^{ns}	
Mo		0,03 ^{ns}			4,92 [*]			2,77 ^{ns}			1,82 ^{ns}	
N		11,97 ^{**}			14,56 ^{**}			0,10 ^{ns}			2,09 ^{ns}	
Mo*N		0,03 ^{ns}			3,72 ^{ns}			0,04 ^{ns}			0,07 ^{ns}	
Var*Mo		1,00 ^{ns}			3,30 ^{ns}			0,42 ^{ns}			0,95 ^{ns}	
Var*N		0,98 ^{ns}			9,34 ^{**}			0,62 ^{ns}			1,08 ^{ns}	
Var*Mo*N		0,02 ^{ns}			3,28 ^{ns}			1,03 ^{ns}			0,72 ^{ns}	
CV (%)		2,3			3,6			3,7			4,9	

Letras minúsculas iguais na linha e maiúsculas na coluna não diferem pelo teste de Tukey; ^{ns} não significativo; *, ** significativos, respectivamente, aos níveis de 5% e 1%, de probabilidade.

Os valores de fibra não foram diferentes nas variedades, nem pela aplicação de N e nem pela aplicação de Mo (Tabela 4). Entretanto, os teores de fibras encontrados neste trabalho se situaram 10% acima do limite superior da faixa indicada como recomendada, de 10,5 a 12,5%, para a manutenção energética das unidades que processam a cana (OLIVEIRA et al., 2009).

Tabela 4. Fibra, Pol na cana (PC) e açúcar teórico recuperável (ATR) no colmo de diferentes variedades de cana-de-açúcar submetidas a aplicação de N e de Mo aos 365 dias após o plantio (DAP)

Fator	Fibra			PC			ATR		
	N (kg ha ⁻¹)		Média	N (kg ha ⁻¹)		Média	N (kg ha ⁻¹)		Média
	0	60		0	60		0	60	
Variedade	----- % -----			-----			----- kg Mg ⁻¹ -----		
RB867515	13,73	13,78	13,75	18,43	17,03	17,73	173,21	162,31	167,76
RB92579	13,88	14,08	13,98	18,09	17,46	17,77	173,14	165,78	169,46
Média	13,81	13,93		18,26 a	17,25 b		173,18 a	164,04 b	
	F			F			F		
Variedade	0,95 ^{ns}			0,01 ^{ns}			0,24 ^{ns}		
Mo	3,93 ^{ns}			0,56 ^{ns}			1,60 ^{ns}		
N	0,27 ^{ns}			5,11 [*]			6,71 [*]		
Mo*N	3,22 ^{ns}			0,00 ^{ns}			0,13 ^{ns}		
Var*Mo	0,96 ^{ns}			0,64 ^{ns}			1,59 ^{ns}		
Var*N	0,12 ^{ns}			0,76 ^{ns}			0,26 ^{ns}		
Var*Mo*N	3,00 ^{ns}			0,72 ^{ns}			2,33 ^{ns}		
CV (%)	4,6			6,9			5,7		

Letras minúsculas iguais na linha e maiúsculas na coluna não diferem pelo teste de Tukey; ^{ns} não significativo; *, ** significativos, respectivamente, aos níveis de 5% e 1%, de probabilidade.

Os valores de PC e de ATR diferiram apenas pela adubação nitrogenada (Tabela 4). Em ambas as variedades de cana a aplicação de 60 kg ha⁻¹ de N causou efeito deletério nas variáveis agroindustriais PC e ATR. Os valores de PC encontrados neste trabalho, independentemente da dose de N, foram, em média, 16% maiores que o observado por Tasso Júnior et al. (2007).

Apesar da redução causada pela adubação nitrogenada, os valores de ATR foram superiores aos encontrados por Oliveira et al. (2011). De acordo com os autores, a RB867515 e RB92579 apresentaram valores de ATR de, respectivamente 151 e

147 kg Mg⁻¹, o que representa 92% do valor encontrado neste trabalho com a dose de 60 kg ha⁻¹ de N, quando se toma como referência o maior valor, que foi de 151 kg Mg⁻¹.

Conclusões

A adubação molíbdica promoveu incrementos dos teores de Mo disponível no solo, tanto na camada superficial quanto na subsuperficial;

A variedade de cana-de-açúcar RB867515 respondeu a adubação molíbdica, tendo sua produtividade de colmos (TCH) e de Pol (TPH) aumentadas com a aplicação de 200 g ha⁻¹ de Mo;

A adubação nitrogenada causou efeito depressivo em variáveis tecnológicas do caldo e do colmo, como pureza, AR, ATR e PC.

Referências bibliográficas

- ALVAREZ, V. V. H.; NOVAIS, R. F.; DIAS, L. E.; OLIVEIRA, J. A. **Determinação e uso do fosforo remanescente**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. p. 27-33. (Boletim Informativo, 25).
- ANDRADE, LUIZ ANTÔNIO DE BASTOS BOCARDO, M. R.; CORREA, J. B. D.; CARVALHO, G. J. DE. Efeitos do nitrogênio, aplicado nas formas fluída ou sólida, em soqueira de cana-de-açúcar. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 24, n. 2, p. 516–520, 2000.
- ARMAS, R. DE et al. Influence of Ammonium and Nitrate on the Growth and Photosynthesis of Sugarcane. **Journal of Plant Physiology**, v. 140, p. 531–535, 1992.
- AZEREDO, D. F.; BOLSANELLO, J.; WEBWE, H.; VIEIRA, J. R. Nitrogênio em cana-planta doses e fracionamento. **STAB, Açúcar, álcool e subprodutos**, Piracicaba, v. 4, n. 5, p. 25-29, 1986.
- BELTÃO, B. A. et al. **Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea - Estado de Pernambuco: Diagnóstico do município de Carpina**. [s.l.] CPRM - Serviço Geológico do Brasil, 2005. p. 11
- CAMPBELL, W. H. NITRATE REDUCTASE STRUCTURE, FUNCTION AND REGULATION: Bridging the Gap between Biochemistry and Physiology. **Annual review of plant physiology and plant molecular biology**, v. 50, p. 277–303, jun. 1999.
- CHAPOLA ET AL., R. G. **Censo varietal 2012**. Araras: CCA-UFSCar, 2012. p. 55
- CONAB. Acompanhamento da safra brasileira - Cana-de-açúcar SAFRA 2013/14. **Conab**, v. 1, n. Abril, p. 1–14, 2014.

- CONSECANA - CONSELHO DOS PRODUTORES DE CANA-DE-AÇÚCAR, A. E Á. DO E. DE S. P. **Manual de instruções**. [s.l.: s.n.]. p. 112
- EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa, 1997. p. 212
- EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes** / editor técnico, Fábio Cesar da Silva. - 2. ed. rev. ampl. - Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 627 p., 2009.
- FITRI, N. et al. Molybdenum Speciation in Raw Phloem Sap of Castor Bean. **Analytical Letters**, v. 41, n. 10, p. 1773–1784, 16 jul. 2008.
- FRANCO, H. C. J. et al. Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer under Brazilian field conditions. **Field Crops Research**, v. 121, n. 1, p. 29–41, fev. 2011.
- JADOSKI, C. J. et al. Fisiologia do desenvolvimento do estágio vegetativo da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.). **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v. 3, n. 2, p. 169–176, 2010.
- KUCEY, R. M. N. et al. Nitrogen fixation (¹⁵N dilution) with soybeans under Thai field conditions. II. Effect of herbicides and water application schedule. **Plant and Soil**, v. 108, p. 87–92, 1988.
- LIMA NETO, J. F. et al. Avaliação agroindustrial e parâmetros genéticos de clones UFRPE de cana-de-açúcar no litoral norte de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 18, n. 1, p. 8–13, 2013.
- LI-PING, W.; YANG-RUI, L.; LI-TAO, Y. Effects of Molybdenum on Nitrogen Metabolism of Sugarcane. **Sugar Tech**, v. 9, n. 1, p. 36–42, 2007.
- LÓPEZ, R. S. et al. Molybdenum Availability in Andisols and Its Effect on Biological Parameters of Soil and Red Clover (*Trifolium Pratense* L.). **Soil Science**, v. 172, n. 11, p. 913–924, nov. 2007.
- OLIVEIRA, A. C. DE. **Interação da adubação nitrogenada e molíbdica em cana-de-açúcar**. [s.l.] Universidade Federal Rural de Pernambuco - Recife, 2012.
- OLIVEIRA, E. C. A. DE et al. Extração e exportação de nutrientes por variedades de cana-de-açúcar cultivadas sob irrigação plena. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 4, p. 1343–1352, 2010.
- OLIVEIRA, E. C. A. DE et al. Produtividade, eficiência de uso da água e qualidade tecnológica de cana-de-açúcar submetida a diferentes regimes hídricos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 446, n. 6, p. 617–625, 2011.

- OLIVEIRA, E. L. DE et al. Uso de vinhaça de alambique e nitrogênio em cana - de - açúcar irrigada e não irrigada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 11, p. 1398–1403, 2009.
- OTTO, R. et al. Fitomassa de raízes e da parte aérea da cana-de-açúcar relacionada à adubação nitrogenada de plantio. **Pesquisa**, v. 44, n. 4, p. 398–405, 2009.
- POLIDORO, J. C. **O molibdênio na nutrição nitrogenada e na contribuição da fixação biológica de nitrogênio associada a cultura da cana-de-açúcar**. [s.l.] Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - Seropédica, 2001.
- RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ VENEGAS, V. H. (ED.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5. Aproximação**. Viçosa: Comissão de fertilidade do solo do estado de Minas Gerais, 1999. p. 359
- ROBINSON, N. et al. Nitrate paradigm does not hold up for sugarcane. **PloS one**, v. 6, n. 4, p. e19045, jan. 2011.
- SANTOS, M. J. **Extração e determinação de Mo em três argissolos do nordeste cultivados com cana-de-açúcar**. [s.l.] UFRPE, 2012.
- SANTOS, M. M. et al. Atividade enzimática na cultura do milho (*Zea mays* L.) em função do molibdênio e de épocas de adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 11, n. 2, p. 145–155, 2012.
- SILVEIRA, J. A. G.; CROCOMO, O. J. Assimilação de nitrogênio em cana-de açúcar cultivada em presença de elevado nível de n e de vinhaça no solo. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 2, n. 2, p. 7–15, 1990.
- SIMÕES NETO, D. E. et al. Níveis críticos de fósforo em solos cultivados com cana-de-açúcar em Pernambuco. **Revista Ceres**, v. 58, n. 6, p. 802–810, 2011.
- TASSO JÚNIOR, L. et al. Produtividade e qualidade de cana-de-açúcar cultivada em solo tratado com lodo de esgoto, vinhaça e adubos minerais. **Revista Engenharia Agrícola**, v. 27, n. 1, p. 276–283, 2007.
- TEDESCO, M.J. , et al. **Análises de solos, plantas e outros materiais**. 2ªed. Porto Alegre, UFRGS. 1995. 174p. (Boletim Técnico, 5).
- VISTOSO G, E. M. V. et al. KINETICS OF MOLYBDATE AND PHOSPHATE SORPTION BY SOME CHILEAN ANDISOLS. **Journal Soil Science Plant and Plant Nutritional**, v. 9, n. 1, p. 55–68, 2009.
- VITTI, A. C. et al. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada ao nitrogênio residual da adubação e do sistema radicular. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 2, p. 249–256, 2007.

WOLFINGER, R.; CHANG, M. **Comparing the SAS ® GLM and MIXED Procedures for Repeated Measures.** Disponível em: <<http://support.sas.com/rnd/app/stat/papers/mixedglm.pdf>>. Acesso em: 26 ago. 2014.

Conclusões Gerais

O uso de Mo em cana-de-açúcar não tem sido muito relatado na literatura, principalmente quando relacionado ao metabolismo de N e a sua fixação biológica. Esses relatos são ainda mais restritos em ensaios conduzidos no campo.

Neste trabalho, as informações técnico-científicas geradas foram obtidas em experimento realizado em campo, sem controle do ambiente, e certamente nortearão trabalhos futuros que envolvam Mo, N, metabolismo das enzimas redutase do nitrato e nitrogenase, além de contribuir com os estudos de fixação biológica de N em cana-de-açúcar.

Assim, pelos dados obtidos puderam-se inferir as seguintes conclusões:

A ARN em cana-de-açúcar foi potencializada pela aplicação de Mo, elevando o acúmulo de N, indicando-se a adubação molíbdica como prática no manejo nutricional da cultura. Entretanto, o comportamento dos genótipos foi distinto e dependeu da maior ou menor disponibilidade de N;

As variedades de cana-de-açúcar RB867515 e RB92579 fixaram N, sendo a contribuição do N atmosférico potencializada pela adubação molíbdica, principalmente na ausência da adubação nitrogenada;

A adubação nitrogenada elevou o acúmulo e a produção de matéria seca da parte aérea nos genótipos de cana, independente da maior ou menor disponibilidade de Mo;

A variedade RB92579 produziu mais matéria seca da parte aérea por planta na presença de Mo, sem aplicação de N. Entretanto, a aplicação de Mo aumentou a produtividade de colmos e de açúcar na RB867515.