

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

EZIO NALIN DE PAULO

Avaliação do inibidor de nitrificação fosfato de 3,4-dimetilpirazol (DMPP) em três solos com gradiente textural, absorção e uso de nitrogênio em plantas de algodão

Piracicaba

2012

EZIO NALIN DE PAULO

Avaliação do inibidor de nitrificação fosfato de 3,4-dimetilpirazol (DMPP) em três solos com gradiente textural, absorção e uso de nitrogênio em plantas de algodão

Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

Dissertação apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. José Lavres Junior

Piracicaba

2012

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Paulo, Ezio Nalin de

Avaliação do inibidor de nitrificação fosfato de 3,4-dimetilpirazol (DMPP) em três solos com gradiente textural, absorção e uso de nitrogênio em plantas de algodão / Ezio Nalin de Paulo; Orientador José Lavres Junior. - - versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2012.

120 p.: il.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Fertilizantes nitrogenados 3. Inibidores de crescimento vegetal 4. Lixiviação do solo 5. Plantas têxteis I. Título

CDU 633.51:631.452

DEDICO

A Deus e ao meu mentor espiritual que me guia e protege. A meus queridos pais que tanto trabalharam para me garantir educação de qualidade.

À minha esposa Janaina de Santana Borges e ao meu filho Heitor Borges de Paulo, as maiores bênçãos que Deus me concedeu. Pelas horas em que não estivemos juntos durante a realização desse trabalho.

OFEREÇO

|

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. José Lavres Junior pela orientação, paciência, apoio e pela honra de ser seu primeiro orientado.

A Profa. Dra. Siu Mui Tsai por todo apoio, incentivo incondicional no mestrado e orientação durante a graduação.

Aos Professores Dr. José Albertino Bendassolli pelas análises de ^{15}N no solo e na planta, Dra. Marisa de Cássia Piccolo, Dr. Plínio Barbosa de Camargo e Dr. Boaventura Freire dos Reis pelas análises de nitrogênio no solo e nos extratos lixiviados.

Aos Professores Dr. Antonio Eneidi Boareto, Dr. Cassio Hamilton Abreu Junior e Dr. Paulo Cesar Ocheuze Trivelin pela atenção.

Aos Drs. Heitor Cantarella e Fernando Zambrosi do IAC pelas dicas na condução dos experimentos.

As empresas K+S Brasileira Fertilizantes e Produtos Industriais Ltda e K+S Nitrogen GmbH pelo apoio na realização do trabalho.

Aos colegas Sheila Perdigão, Guilherme Furlan, Fabiana Adorno, Henriqueta Gimenes, Suzineide Manesco, Hugo Batagello, Miguel Baldessin, José Aurélio Bonassi (Pingin) por toda ajuda na realização deste trabalho. Aos funcionários do CENA/USP.

Em especial à Cleusa Cabral pela amizade e apoio.

Aos alunos e estagiários do Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas do CENA, André Luiz Francisco, André Luis Trombeta, Bruno Zanchim, Camila Vieira, Carolina Wendel, Cintia Avalhães, Élcio dos Santos, Eduardo Spolidorio, Felipe Villanueva, José Carlos Poppl, Keyla Boralli, Laura Windlin, Lucia Firme, Luiz Henrique Marcandalli, Luiz Tadeu Jordão, Mateus Donegá, Nicolas Casarin, Raphael Garrone, Renato Lopes, Riviane Donha, Rosenildo Sousa, Sara Leita, Saulo Castro, Thiago Nogueira e Vivian Braga e, em especial, à estagiária Aline Grella de Campos pelo esforço e dedicação integral, e à pós-doutoranda Cristiane Prezotto pela auxílio na revisão do texto final.

Aos colegas de república e do Laboratório de Biologia Molecular do CENA/USP, Eneas Konzen, Wellington Campos, Eustorgio Nunes, Clóvis Borges, Ludmila Campos, Lucas Mendes, Fabiana Cannavan, Mariana Germano, Wagner Picinini, Francisco Montrazi (*in memorian*), Fábio Duarte, José Elias Gomes, Daniel Lammel pela amizade.

"Ajuizado serás, não supondo que sabes o que ignoras".

Platão

RESUMO

PAULO, E. N. **Avaliação do inibidor de nitrificação fosfato de 3,4-dimetilpirazol (DMPP) em três solos com gradiente textural, absorção e uso de nitrogênio em plantas de algodão.** 2012. 120 p. Dissertação (Mestrado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

A utilização de inibidores de nitrificação pode ser uma alternativa interessante para aumentar a eficiência do uso do fertilizante nitrogenado em diversas culturas, porém, essa alternativa vem sendo pouco estudada em condições de solo e clima do Brasil. Assim, objetivou-se com esse trabalho avaliar a eficiência do inibidor de nitrificação fosfato de 3,4-dimetilpirazol (DMPP) em três solos com gradiente textural, bem como avaliar o destino do nitrogênio (N-NO_3^- , N-NH_4^+ e ^{15}N) no solo, a absorção e o uso do nitrogênio (N-total e ^{15}N) nas plantas de algodão. Três experimentos foram montados e desenvolvidos. No primeiro foi efetuada a incubação do solo em condições de laboratório para avaliar a inibição da nitrificação pelo DMPP aplicado na forma de ureia e sulfonitrato de amônio (SNA) em três solos (Neossolo Quartzarênico - NQ, Latossolo Vermelho Amarelo - LVA, Latossolo Vermelho - LV). No segundo experimento plantas de algodão foram cultivadas em colunas de lixiviação com os mesmos solos, recebendo ureia e sulfonitrato de amônio, com e sem DMPP como fonte de N. Foram avaliados a produção de matéria seca, o acúmulo de nutrientes nas plantas, a eficiência de uso do N pelo algodoeiro, a lixiviação e a quantidade de N mineral no solo após o cultivo do algodão por 60 dias. No terceiro experimento, plantas de algodão foram cultivadas também em colunas lixiviação, porém, com um solo de textura média (Latossolo Vermelho Amarelo), o qual recebeu três doses de N em cobertura (50, 100 e 150 kg ha⁻¹ de N) na forma de ureia marcada no isótopo ^{15}N , com e sem DMPP. Foram avaliados a produção de matéria seca, teor de N e recuperação do N aplicado na planta, lixiviação de N, teor de N-total, nítrico e amoniacal no solo, e recuperação do N aplicado no solo após o cultivo do algodão, por 90 dias. Melhores resultados foram obtidos com a aplicação do DMPP em ureia em relação ao SNA. No experimento de incubação, o DMPP foi capaz de manter menor o teor de nitrato nos três solos analisados. A nitrificação do N na ureia foi mais rápida comparado ao SNA, o que permitiu melhor desempenho do inibidor na ureia em dois dos três solos estudados. O efeito do DMPP aumentou seguindo a seguinte ordem: NQ>LVA>LV. O inibidor foi mais eficiente nos solos com menor teor de argila e matéria orgânica. O uso do DMPP em ureia aplicada no solo arenoso (NQ) reduziu significativamente a lixiviação de N e aumentou a produção de matéria seca, a eficiência do uso do N e a absorção de fósforo pela planta. No solo de textura média (LVA), sob irrigação intensa, o DMPP reduziu significativamente as perdas de N do sistema e aumentou a recuperação do ^{15}N aplicado na planta e no solo, o que, porém, não se traduziu em maior produção de matéria seca

provavelmente pelo N não ter sido limitante, devido à mineralização da matéria orgânica. As atividades das enzimas redutase do nitrato e urease não diferiram entre tratamentos com e sem DMPP.

Palavras-chave: Algodão. Eficiência de uso do nitrogênio. Isótopo. Lixiviação de nitrogênio. Redutase do nitrato. Urease.

ABSTRACT

PAULO, E. N. **Evaluation of nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazol phosphate (DMPP) in three soils as related to textural gradient, nitrogen uptake and N-use efficiency by cotton plants.** 2012. 120 p. Tese (Mestrado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

The use of nitrification inhibitors may be an interesting alternative to increase nitrogen fertilizer use efficiency in different crops, although it has been little studied in soil and climate conditions of Brazil. This study aimed to evaluate the efficiency of the nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) in three soils with textural gradient (represented by clay percentage), as well as to evaluate the fate of soil nitrogen (N-NO_3^- , N-NH_4^+ and ^{15}N), nitrogen uptake, and N-use efficiency (total-N and ^{15}N) by cotton plants. Three experiments were set and carried out in a controlled environment. In the first one, a laboratory incubation was performed to evaluate the inhibition of nitrification by DMPP applied to urea and ammonium sulfate nitrate (ASN) in three soils (Typic Quartzipsammnet - NQ, Typic Hapludox - LVA, Rhodic Hapludox - LV). In the second experiment, leaching columns with the same soils were planted with cotton receiving ammonium sulfate nitrate and urea with or without DMPP as nitrogen source. It were evaluated plant dry matter yield (shoot plus roots), nutrient uptake and nitrogen use efficiency by cotton plants, as well as the nitrogen leaching, and mineral nitrogen amount in the soil after cotton growth, for 60 days. In the third experiment, leaching columns with a medium textured soil (LVA) were planted with cotton and received three nitrogen rates in topdressing (50, 100 and 150 kg ha⁻¹) as ^{15}N -urea with and without DMPP. The production of dry matter, nitrogen content and recovery of applied N in the plant and soil, as well as the nitrogen leaching, total nitrogen, nitrate and ammonium in the soil were evaluated after cotton growth for 90 days. Best results were obtained with the application of DMPP to urea than in ASN. In the incubation experiment, the DMPP was able to maintain lower nitrate content in the three soils. The nitrification of nitrogen from urea was faster than the one from ASN, which allowed a better performance of the inhibitor in the urea in two out of three soils analyzed. The effect of DMPP increased in the following order: NQ > LVA > LV. The inhibitor was more effective in soils with lower clay and organic matter contents. The use of DMPP in urea applied on the sandy soil (NQ) significantly reduced N leaching and increased dry matter production, nitrogen use efficiency and phosphorus uptake by cotton plants. In a medium textured soil (LVA) under intense irrigation, DMPP significantly reduced N losses in the system and increased the recovery of applied ^{15}N in plant and soil, which however did not translate into higher dry matter production because nitrogen was probably not limiting. The activity of the enzymes nitrate reductase and urease were not different between treatments with and without DMPP.

Keywords: Cotton. Isotope. Nitrogen use efficiency. Nitrogen leaching. Nitrate reductase. Urease.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Nitrogênio na agricultura	15
2.2 Nitrogênio na cultura do algodão	16
2.3 Nitrificação na agricultura	18
2.4 Perdas de N e nitrificação	21
2.5 Inibidores de nitrificação	24
2.6 Fostato de 3,4-dimetilpirazol (DMPP)	28
2.6.1 Fatores que influenciam a eficiência do DMPP no solo	29
2.6.2 Redução de lixiviação de nitrato pelo uso do DMPP	31
2.6.3 Efeito na produtividade das culturas	33
3 MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1 Experimento 1 – Avaliação do DMPP aplicado em ureia e sulfonitrato de amônio na inibição da nitrificação em três solos	39
3.1.1 Montagem e condução do experimento	39
3.1.2 Determinações analíticas	41
3.1.3 Análises dos resultados	42
3.2 Experimento 2 - Efeito do uso de inibidor de nitrificação DMPP em ureia e sulfonitrato de amônio no crescimento do algodoeiro e na lixiviação de N no solo	43
3.2.1 Montagem e condução do experimento	43
3.2.2 Análise de nitrogênio e pH do solo	47
3.2.3 Análise de nitrogênio na água percolada	48
3.2.4 Produção de matéria seca e composição mineral das plantas	48
3.2.5 Avaliação da eficiência do uso do nitrogênio	49
3.2.6 Atividade das enzimas redutase do nitrato e urease	49
3.2.7 Análises dos resultados	50
3.3 Experimento 3 – Efeito do DMPP em ureia na recuperação de ¹⁵ N do fertilizante na planta e no solo na cultura do algodão	51
3.3.1 Montagem e condução do experimento	51
3.3.2 Determinações analíticas	55
3.3.3 Análise dos resultados	56

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
4.1 Experimento 1 – Avaliação do DMPP aplicado em ureia e sulfonitrato de amônio na inibição da nitrificação em três solos	57
4.1.1 Variação dos valores de pH do solo durante a incubação	57
4.1.2 Dinâmica do nitrogênio mineral ao longo da incubação	59
4.1.2.1 Neossolo Quartzarenico	59
4.1.2.2 Latossolo Vermelho Amarelo	64
4.1.2.3 Latossolo Vermelho	68
4.1.3 Inibição da nitrificação pelo DMPP	73
4.2 Experimento 2 - Efeito do uso de inibidor de nitrificação DMPP em ureia e sulfonitrato de amônio no crescimento do algodoeiro e na lixiviação de N no solo	75
4.2.1 Nitrogênio Mineral e pH do solo após cultivo do algodão	75
4.2.2 Lixiviação de nitrogênio mineral	80
4.2.3 Produção de matéria seca e acúmulo de nutrientes pelo algodão ...	85
4.2.4 Eficiência do uso do nitrogênio	89
4.2.5 Atividade das enzimas redutase do nitrato e urease	92
4.3 Experimento 3 - Efeito do DMPP em ureia na recuperação de ¹⁵ N do fertilizante na planta e no solo na cultura do algodão	94
4.3.1 Análise do N do solo após cultivo do algodão	94
4.3.2 Análise da água percolada durante o cultivo do algodão	95
4.3.3 Produção de matéria seca e teor de N na planta	98
4.3.4 Recuperação do ¹⁵ N aplicado	101
4.4 Comentários finais	105
5 CONCLUSÕES	107
REFERÊNCIAS	108

1 INTRODUÇÃO

O nitrogênio (N) é o nutriente absorvido em maior quantidade pelas culturas agrícolas, sendo responsável por parcela significativa no custo de produção destas. Todavia, a eficiência de utilização do N pelas plantas ainda é baixa devido a vários fatores como volatilização de amônia, lixiviação de nitrato, nitrificação e desnitrificação, emissão de óxido nitroso entre outros.

Quantidade enorme de N mineral é utilizada na agricultura para impulsionar os atuais sistemas de produção intensivos que alimentam a população global. Essa grande entrada de nitrogênio representa muitas consequências ambientais indesejadas, principalmente devido à nitrificação e perdas de N associadas nos sistemas agrícolas. Portanto, é necessário desenvolver estratégias para aumentar a eficiência do uso do N que atendam as exigências de alta produtividade e reduza impactos ambientais (SUBBARAO et al., 2006).

Para aumentar a eficiência do fertilizante nitrogenado, diversas alternativas vêm sendo estudadas e empregadas. As boas práticas para o uso de fertilizantes recomendam sempre utilizar a fonte adequada na hora, local e tempo certo. O processo de nitrificação oferece significativo potencial para mudanças que poderiam aumentar a eficiência do uso do nutriente, pois na forma de nitrato ele se torna mais susceptível a lixiviação e desnitrificação, ou seja, perdas no sistema e impacto ambiental negativo.

Alguns estudos demonstraram que o uso de inibidores de nitrificação pode contribuir para melhorar eficiência do uso do N devido à redução da lixiviação de nitrato, redução da emissão de óxido nitroso e maior fornecimento de N na forma amoniacal para a planta.

Inibidores de nitrificação são compostos que retardam a transformação do N amoniacal em nítrico pelas bactérias do solo. Diversos estudos foram desenvolvidos, principalmente na Europa, Estados Unidos e China comprovando a eficiência de algumas moléculas como a Dicianodiamida (DCD), o Fosfato de 3,4-dimetilpirazol (DMPP) e Nitrapirina, as quais já são utilizadas em escala comercial (TRENKEL, 2010). O DMPP é um dos inibidores de nitrificação mais eficientes

existente no mercado. Porém, sua eficiência depende das condições de clima e solo, como temperatura, umidade, textura e matéria orgânica (IRIGOYEN et al., 2003).

No Brasil, a pesquisa com tais compostos ainda é incipiente quando comparada a outras potências agrícolas. Desse modo, objetivou-se com este estudo avaliar o efeito do DMPP aplicado em ureia e sulfonitrato de amônio na nitrificação em três solos contrastantes quanto ao conteúdo de argila; avaliar o efeito do DMPP aplicado em ureia e sulfonitrato de amônio na lixiviação de N, na produção de matéria seca, acúmulo dos nutrientes nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S) e na eficiência do uso do nitrogênio pelo algodoeiro; avaliar o efeito do uso do DMPP em ureia na recuperação de ^{15}N aplicado em cultivo de algodão em colunas de lixiviação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Nitrogênio na agricultura

O nitrogênio (N) é nutriente vegetal importante para a obtenção de alta produção das culturas e elevada qualidade dos produtos agrícolas. É constituinte de quase todas as estruturas vegetais, sendo componente essencial da clorofila, de enzimas, proteínas, entre outras. Ocupa posição de destaque na nutrição mineral de plantas, devido às altas quantidades extraídas pelos vegetais, bem como por ser muito exigido pelas culturas em relação aos outros nutrientes. O nitrogênio exerce influência positiva no crescimento das raízes as quais, por sua vez, garantem a absorção de água e de nutrientes. Portanto, as plantas usualmente respondem acentuadamente à aplicação de N, com exceção daquelas plantas que realizam fixação biológica (HOFMAN; CLEEMPUT, 2004).

Do ponto de vista econômico, o N ganha importância capital para que a produção de alimentos, fibras e energia no Brasil alcance efetivamente uma posição de liderança no mundo nos próximos 20 anos (FRANCO; NETO, 2007). Em 2010, o Brasil consumiu cerca de 2,85 milhões de toneladas de N, e em 2015 estima-se que serão consumidos em torno de 3,18 milhões de toneladas (FRANCO; NETO, 2007). Cerca de 50% do aumento de produtividade das culturas agrícolas se deve à adição de fertilizantes, e considerando o papel crucial do N na agricultura, o adequado suprimento e uso dos fertilizantes nitrogenados se tornam primordial para que o país possa manter e consolidar sua posição de grande produtor mundial (FRANCO; NETO, 2007).

Mesmo com toda sua importância, a eficiência do uso do N na agricultura ainda é baixa. Em culturas de manejo intensivo, a taxa de recuperação do fertilizante fica somente entre 50 e 70% do que é aplicado (WIESLER, 1998). Existem várias maneiras de se aumentar a eficiência dos fertilizantes nitrogenados principalmente por meio do manejo correto da nutrição da cultura considerando fatores como dose, época e modo de aplicação, clima, fonte utilizada, manejo da água, entre outros (BOARETTO; MURAOKA; TRIVELIN, 2007). O parcelamento da aplicação melhora

a sincronia entre fornecimento e absorção de N pela planta e contribui para o aumento da eficiência do fertilizante, reduzindo as chances de perda por lixiviação e imobilização no solo (CANTARELLA, 2007). A agricultura de precisão também contribui nesse sentido com técnicas para aplicação espacializada de fertilizantes nitrogenados que sincronizam a necessidade de insumos com o potencial de produtividade, as propriedades dos solos e as informações de manejo, possibilitando maiores lucros e evitando aplicações inadequadas de fertilizantes (FAIRCHILD, 2007).

Outro possível modo de aumentar a eficiência do uso do N é o uso de fertilizantes de eficiência aprimorada. Alternativas de produtos, com a finalidade de aumentar a eficiência de uso do N, incluem compostos de baixa solubilidade, produtos de liberação lenta recobertos por resinas ou outros materiais inorgânicos e sintéticos, e fertilizantes contendo inibidores de urease e/ou nitrificação. No Brasil, a opção de novos produtos mais largamente avaliada é a ureia contendo inibidor de urease (CANTARELLA, 2007). Os inibidores de nitrificação, apesar de mostrarem resultados promissores no exterior, têm sido pouco estudados no Brasil.

2.2 Nitrogênio na cultura do algodão

O N é o nutriente que o algodoeiro extrai em maior proporção. Doses adequadas estimulam o crescimento e o florescimento, regularizam o ciclo da planta, aumentam a produtividade e melhoram o comprimento e a resistência da fibra; enquanto doses elevadas aumentam o desenvolvimento vegetativo e prolongam o ciclo da cultura em detrimento da produtividade (CAMACHO et al., 2009).

Normalmente, a produção de fibra pelo algodoeiro ajusta-se ao modelo quadrático de regressão polinomial em função do suprimento de N. Segundo Rosolem (2010), não se dispõe de método objetivo para estimar a resposta do algodoeiro ao nitrogênio. Assim, a recomendação deve se basear no histórico da área e no nível de produtividade esperado. No Estado de São Paulo a recomendação é aplicar 10 kg ha⁻¹ na semeadura, e doses de até 70 kg ha⁻¹ em cobertura dependendo da resposta esperada (SILVA; RAIJ, 1996). Segundo

Rosolem (2001), doses acima de 120 kg ha^{-1} dificilmente seriam economicamente viáveis. No Mato Grosso, obtém-se resposta significativa até 140 kg ha^{-1} . A Fundação MT (2001) recomenda aplicação de 120 a 130 kg ha^{-1} em solos argilosos. Para solos arenosos, 150 kg ha^{-1} sendo de 15 a 30 kg ha^{-1} na semeadura e o restante parcelado em duas coberturas, sendo a primeira no abotoamento (25 a 35 dias após emergência) e segunda no florescimento (45 a 50 dias após emergência). Segundo Ferreira e Carvalho (2005) doses econômicas de N no Cerrado estão entre 120 a 175 kg ha^{-1} .

No oeste da Bahia, Ferreira, Severino e Silva Filho (2004) verificaram que a maior eficiência de recuperação do N aplicado ocorreu na dose de 65 kg ha^{-1} . A recuperação do fertilizante diminuiu significativamente com o aumento da dose, chegando a menos de 60% quando foram aplicados 180 kg ha^{-1} . No sudoeste da Bahia em anos chuvosos, os autores observaram respostas ao nitrogênio aplicado até doses de 140 kg ha^{-1} , porém, recomendaram o uso de 40 a 50 kg ha^{-1} em anos normais. Essa maior resposta em ano chuvoso pode ser indicativo de perda por lixiviação.

O excesso de adubação nitrogenada, assim como o atraso na aplicação, faz com que o tamanho dos frutos seja aumentado na parte superior da planta, resultando em aparente aumento de produtividade. Simultaneamente, o tamanho dos frutos nas partes de baixo e mediana da planta é reduzido. Dessa forma, o excesso de nitrogênio modifica o perfil de produção do vegetal, priorizando estruturas frutíferas que, normalmente, apresentam menor qualidade de fibra (ROSOLEM, 2010).

Ferreira, Severino e Silva Filho (2004) observaram que aumentando as doses de N o rendimento de beneficiamento caiu, porque o nitrogênio proporcionou maior crescimento das sementes. Além da diminuição na porcentagem de fibra, o excesso de N também pode reduzir sua qualidade evidenciando que a cultura prioriza o crescimento vegetativo nessa situação. O excesso de N também pode levar ao aumento de perdas por apodrecimento de maçãs no final do ciclo. Aplicações tardias não são recomendadas, pois podem ser prejudiciais a produtividade e qualidade da fibra (ROSOLEM, 2010). Assim, o manejo do nitrogênio na cultura do algodão é ponto crucial para o sucesso da cultura.

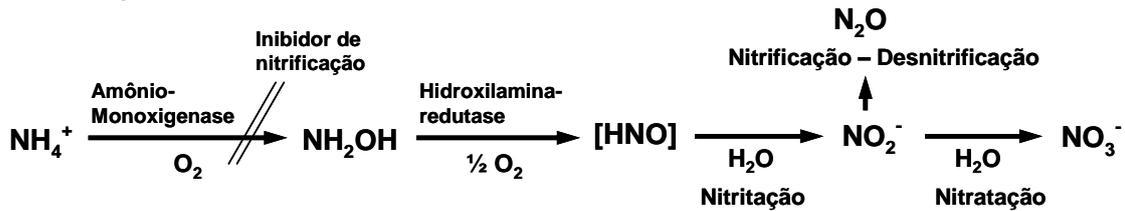
Teoricamente, a utilização de inibidores de nitrificação na cultura de algodão pode trazer benefícios para cultura do algodão devido as características do sistema radicular da cultura, benefícios pela nutrição com amônio, e aumento da eficiência do uso do N, conforme será discutido adiante. Segundo Cavaleri e Inforzato (1956), o sistema radicular do algodão pode chegar a 2,5 metros de profundidade, porém cerca de 80% de sua massa esta concentrada de 0 a 20 cm e cerca de 90% de 0 a 50 cm. A densidade do sistema radicular de algodão geralmente é menor quando comparada a outras culturas, o que pode levar a menor exploração dos nutrientes do solo (BROUDER; CASSMAN, 1994). Dessa forma, é importante manter o nitrogênio pelo menos até 50 cm de profundidade, para permitir maior absorção, o que poderia ser explorado com o uso dos inibidores de nitrificação.

Alguns estudos no Brasil, comparando o sulfonitrato de amônio com inibidor de nitrificação DMPP (produto comercial conhecido como ENTEC 26), não demonstraram aumento de produtividade ou vantagem econômica na utilização do produto em comparação com a ureia (CAMACHO et al., 2009; CARVALHO; FERREIRA, 2009). Porém, ressalta-se que esses estudos foram realizados em áreas de solo argiloso, onde a lixiviação do N aplicado geralmente é menor e não se espera resposta de inibidores de nitrificação.

2.3 Nitrificação na agricultura

No solo, o amônio (NH_4^+) é oxidado a nitrito (NO_2^-) e este a nitrato (NO_3^-) respectivamente, de acordo com o processo diagramado na Figura 1.

Nitrificação



Desnitrificação

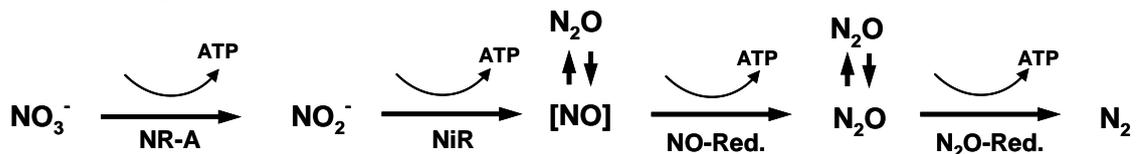


Figura 1 - Esquema dos processos de nitrificação e desnitrificação incluindo o bloqueio da oxidação do amônio (WEISKE et al., 2001)

Bactérias do grupo *Nitrosomonas spp* são responsáveis pela transformação do amônio (NH_4^+) em nitrito (NO_2^-). Em seguida, o nitrito formado é rapidamente oxidado a nitrato (NO_3^-) por bactérias dos grupos *Nitrobacter* e *Nitrosolobus spp*. (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). O processo todo é conhecido como nitrificação.

A oxidação da amônia é o processo chave da nitrificação. Somente alguns poucos grupos conhecidos de microrganismos são capazes de realizá-lo (KLEINEIDAM et al., 2011). Tradicionalmente, beta e gama-proteobactérias têm sido reconhecidas como agentes exclusivos nesse processo (BOCK; WAGNER, 2006). Recentemente, oxidantes de amônia do domínio *archaea* foram identificadas em solos. A quantificação do gene *amoA*, que codifica uma subunidade da enzima amônia monooxigenase (AMO), revelou que estas eram mais abundantes do que as próprias bactérias oxidantes de amônia em alguns solos (LEININGER et al., 2006; CHEN et al., 2008). Estudos recentes, porém, demonstraram que mesmo menos abundantes as bactérias parecem dominar o processo de oxidação da amônia em solos agrícolas (JIA; CONRAD, 2009). Organismos heterotróficos como fungos, bactérias quimiorganotróficas, e até mesmo plantas também podem realizar nitrificação por diferentes processos bioquímicos, porém, a nitrificação bacteriana quimioautotrófica é a principal via de nitrificação no solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; SAHRAWAT, 2008).

Para que a nitrificação ocorra, condições ótimas de população de microrganismos nitrificantes, pH, temperatura, oxigênio, umidade e disponibilidade do substrato são importantes. A temperatura ótima para a nitrificação parece estar entre 25 a 35°C, temperatura na qual as bactérias nitrificantes se desenvolvem melhor (SARAHWAT, 2008).

Solos argilosos geralmente apresentam maiores fluxos de mineralização e nitrificação do que solos arenosos. A argila limita a mineralização de N e a nitrificação reduzindo a difusão de matéria orgânica. Durante períodos de alta umidade a argila protege o N orgânico do ataque de microrganismos. Ciclos de umedecimento e secagem, todavia, quebram a proteção física promovida pela argila. A presença de maior superfície de contato aumenta o estabelecimento da biomassa bacteriana ao fornecer sítios de fixação e concentrar nutrientes diluídos em solução, o que favorece a nitrificação (SARAHWAT, 2008). Por isso, em geral, a nitrificação parece ser mais rápida em solos argilosos.

Alta umidade com reduzida aeração do solo prejudica a nitrificação, que depende de oxigênio. A taxa de nitrificação no solo é máxima na capacidade de campo (SARAHWAT, 2008). Evidências mostram que alta umidade é mais prejudicial do que baixa umidade. Dependendo da textura do solo, o mesmo conteúdo gravimétrico de água pode resultar em potenciais mátricos diferentes, o que implica em diferentes disponibilidades de água para os microrganismos do solo, afetando a atividade das bactérias nitrificadoras em baixo conteúdo de água, tanto pela desidratação celular quanto pela limitação do substrato (SARAHWAT, 2008).

Por sua vez, a qualidade da matéria orgânica afeta diretamente a nitrificação, especialmente sua relação C:N. Alta relação C:N favorece a imobilização de amônio, resultando em menor quantidade do íon disponível para os organismos nitrificantes (SARAHWAT, 2008).

Sabe-se também que o pH do solo é o principal fator regulador da nitrificação. O processo ocorre em valores de pH entre 5 e 10, com valor ótimo por volta de 8,5 (SARAHWAT, 2008). Entretanto, até mesmo nos solos mais ácidos (pH \approx 3) foi relatado a ocorrência de nitrificação. O substrato para a enzima amônia monooxigenase é a amônia (NH₃) e não o NH₄⁺ (DE BOER; KOWALCHUK, 2001). Ambientes excessivamente ácidos podem limitar a formação de NH₃.

Silva, Vale e Fernandes (1999) observaram que a adição de carbonato de cálcio para a correção da acidez em solos de Minas Gerais aumentou significativamente a nitrificação. O acréscimo nos níveis de cálcio e a neutralização do alumínio foram os fatores que mais contribuíram para o aumento na nitrificação. Da mesma forma, outros trabalhos têm demonstrado o efeito do aumento na intensidade da nitrificação devido à calagem (ROSOLEM; FOLONI; OLIVEIRA, 2003; SILVA; VALE, 2000; AGOSTINI, 2003).

A reação de nitrificação libera hidrogênio (H^+), o qual resulta em acidificação do solo (SAHRAWAT, 2008). Com o tempo, essa acidificação pode acabar limitando o processo de nitrificação no solo. Assim, a correção da acidez através da calagem, poderia estimular a nitrificação, especialmente em sistemas de plantio direto – semeadura direta -, onde a calagem superficial é utilizada. Nesse caso a zona superficial do solo que também recebe o fertilizante nitrogenado apresentaria condições ideais para a nitrificação (ROSOLEM; FOLONI; OLIVEIRA, 2003).

O efeito do pH na nitrificação é importante para explicar a rápida nitrificação que se observa após a aplicação de alguns fertilizantes nitrogenados no solo. Em geral, observa-se rápida nitrificação do N aplicado na forma de ureia, enquanto sulfato de amônio é nitrificado mais lentamente (SILVA; VALE, 2000). Mesmo quando aplicada em solos ácidos, a ureia pode estimular a nitrificação devido ao aumento de pH em função de sua hidrólise e também devido à capacidade de algumas bactérias nitrificadoras de absorver e hidrolisar a ureia a nível intracelular utilizando o carbono de sua molécula (BURTON; PROSSER, 2001; MARSH; SIMS; MULVANEY, 2005).

2.4 Perdas de N e nitrificação

A nitrificação converte o N de uma forma relativamente imóvel a uma forma altamente móvel no solo, o que traz consequências para eficiência do uso do N e para a qualidade ambiental. A nitrificação ocorre rapidamente na maioria dos solos agrícolas com pH adequado, sendo a maior parte do NH_4^+ aplicado nitrificado

dentro de quatro semanas. Sendo um cátion, o amônio fica ligado eletrostaticamente a superfícies negativamente carregadas dos minerais de argila e grupos funcionais da matéria orgânica do solo (e.g., grupos carboxílicos), o que limita as perdas por lixiviação (SUBBARAO et al., 2006; SARAHWAT, 2008). O mesmo não ocorre com o nitrato, que é altamente móvel no solo, e por isso mais sujeito a perdas por lixiviação.

A nitrificação também aumenta o potencial de perda de N por emissões de óxido nitroso (N_2O), óxido nítrico (NO) e gás nitrogênio (N_2), como mostrado na figura 1 (WEISKE et al., 2001). Em condições de menor umidade a nitrificação, ao invés da desnitrificação, é a maior fonte de N_2O do solo. A desnitrificação predomina quando a umidade fica acima de 80% do volume de poros do solo (MOSIER, 1998). Assim, manter o nitrogênio na forma de NH_4^+ estende seu tempo de permanência na zona radicular, permanecendo disponível à planta por mais tempo (SUBBARAO et al., 2006).

A grande mobilidade do nitrato no solo, aliada à crescente utilização de fertilizantes minerais nitrogenados gera preocupação em diversas áreas do planeta, por causa da eutrofização de águas superficiais e da contaminação de águas subterrâneas (ARAÚJO et al., 2004). Embora inicialmente fosse julgado que as perdas de nitrato por lixiviação em solos brasileiros fossem mínimas (VITOUSEK, 1983; REIS; BARROS, 1990), devido à existência de cargas elétricas positivas em profundidade no solo (DYNIA, 2000), verifica-se em diversos estudos que os solos brasileiros podem apresentar lixiviação de nitrato significativa (ARAÚJO et al., 2004). Oliveira et al. (2001) observaram perdas acima de $100 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ de NO_3^- em solos que receberam lodo de esgoto ou mesmo adubação nitrogenada convencional para a cultura da cana-de-açúcar. Mesmo em solos eletropositivos e com alto teor de argila, Dynia (2000) observou que o nitrato movimentou-se além da zona de exploração radicular da maioria das culturas, alcançando profundidades entre 2 a 6 m de profundidade, onde se acumulava.

Fernandes e Libardi (2009) avaliaram a lixiviação de nitrato a 0,8 m de profundidade em um sistema de rotação milho-braquiária-milho em solo de textura areno-argilosa com doses de N. No primeiro cultivo de milho a drenagem foi baixa e as perdas de nitrato não foram significativas para nenhuma das doses avaliadas. No

cultivo da braquiária, a precipitação e drenagem interna foram maiores, e a perda de NO_3^- foi de $26,16 \text{ kg ha}^{-1}$ quando se aplicou 120 kg ha^{-1} de N, e $39,8 \text{ kg ha}^{-1}$ para a dose de 180 kg ha^{-1} . No segundo cultivo do milho, os autores observaram perda de nitrato de 23 kg ha^{-1} para ambas as doses de N. Em todos os cultivos, a lixiviação de nitrato foi muito baixa ou nula nas doses de 0 a 60 kg ha^{-1} . Os autores também verificaram que a lixiviação do nitrato proveniente do fertilizante foi nula no primeiro cultivo do milho, e baixa nos outros dois cultivos. No entanto, observaram aumento na quantidade de N lixiviado quando se aumentou a dose aplicada.

Ghiberto et al. (2009) trabalharam com a cultura da cana-de-açúcar em solo de textura média aplicando 120 kg ha^{-1} de N, na forma de ureia. Durante o ciclo da cultura, os autores verificaram drenagem interna de cerca de 205 mm a 0,9 m de profundidade e perda de N por lixiviação de 18 kg ha^{-1} , representando 15% da quantidade de N aplicada. Todavia, a quantidade de N proveniente do fertilizante lixiviado, analisado por meio de marcação isotópica com ^{15}N , foi baixa. Os resultados mostraram que períodos pequenos, em relação ao ciclo da cultura, podem ser determinantes no transporte de solutos, especialmente quando o conteúdo de água no solo excede a capacidade de campo.

Oliveira et al. (2002) desenvolveram experimento em lisímetro de 0,9 m de altura com cana-de-açúcar em solo arenoso. Os autores verificaram perda de $4,5 \text{ kg ha}^{-1}$ de N durante período de 11 meses após aplicação de 90 kg ha^{-1} de N. Ademais, não foi verificada perda de N proveniente do fertilizante. Nesse caso a quantidade de N perdida por lixiviação não foi influenciada pela dose de N. Nas doses de 0, 30 e 60 kg ha^{-1} de N a quantidade de N perdida também ficou em torno de 4 kg ha^{-1} .

As perdas por lixiviação estão relacionadas ao fornecimento de N ao sistema, fertilização excessiva, interação entre as transformações sofridas pelo N, balanço hídrico, propriedades químicas e físicas do solo, características da cultura como a marcha de absorção do N. Grandes quantidades de nitrogênio podem ser aplicadas no solo sem que ocorra a lixiviação, basta que não haja quantidade suficiente de água para causar drenagem. A textura do solo pode facilitar ou dificultar a drenagem, o que será refletido na lixiviação. A concentração de nitrato na solução do solo é relacionada ao ritmo de absorção da cultura instalada.

Desse modo, a espécie cultivada e sistema de produção empregado são cruciais na determinação do ritmo de aproveitamento do nitrogênio aplicado (STEEGE; STULEN; MARY, 2001).

Em geral, muitos estudos de campo têm revelado perdas significativas de nitrato por lixiviação em solos agrícolas. Entretanto, técnicas de marcação isotópica têm mostrado que a maior parte do N lixiviado vem principalmente da matéria orgânica mineralizada (OLIVEIRA et al., 2002). Contudo, muitas vezes se observa maior lixiviação de nitrato quando se aplicam doses de N elevadas. Os resultados de pesquisa ainda são bastante variáveis devido aos vários fatores envolvidos no processo. A lixiviação de nitrogênio parece ser um problema sério em anos mais chuvosos, para solos arenosos e em culturas nas quais se aplica nitrogênio em excesso.

Outro aspecto da lixiviação de nitrato é o favorecimento da lixiviação de cátions. Os ânions SO_4^{2-} e NO_3^- provenientes da mineralização dos resíduos orgânicos e dos fertilizantes podem promover, em determinadas condições, a movimentação descendente dos cátions básicos (Ca^{2+} , Mg^{2+} e K^+) no perfil, em virtude da associação iônica na solução do solo (formação de pares iônicos) com a neutralização momentânea de cargas (OLIVEIRA et al., 2002; FOLONI; ROSOLEM; GARCIA, 2006; CAHN et al., 1993). Assim, a lixiviação de nitrato também poderia contribuir para aumentar a lixiviação de cátions conforme mostram alguns estudos (DI e CAMERON, 2004; 2005; WU et al., 2006).

2.5 Inibidores de nitrificação

Inibidores de nitrificação, quando adicionados a fertilizantes nitrogenados aplicados ao solo, atrasam a transformação de NH_4^+ a NO_2^- prevenindo ou, no mínimo, retardando a atividade de bactérias do gênero *Nitrosomonas*. Assim, possibilitam a permanência do nitrogênio na forma amoniacal por mais tempo, o que pode trazer vantagens para a agricultura e o meio ambiente. Entre os inibidores de nitrificação conhecidos os mais utilizados e estudados são Nitrapirina, a Dicianodiamida (DCD), e mais recentemente o Fosfato de 3,4-dimetilpirazol (DMPP) (TRENKEL, 2010).

A nitrapirina é um composto organo-clorado, com forte ação na inibição da nitrificação. Como é um produto muito volátil sua utilização em fertilizantes sólidos não é muito prática. Assim sua aplicação no mundo é restrita aos Estados Unidos, onde é utilizada no inverno em aplicações de amônia anidra incorporada ao solo (TRENKEL, 2010).

O DCD é provavelmente o inibidor de nitrificação mais utilizado no mundo sendo produzido por diversas empresas na Alemanha, China, Japão e Noruega (TRENKEL, 2010). Sua eficiência foi comprovada em diversos estudos, inclusive no Brasil (MARCELINO, 2009; BARTH, 2009). Em comparação ao seu principal concorrente, o DMPP, possui algumas desvantagens: apresenta fitotoxicidade em alguns casos, funciona em dosagens cerca de dez vezes maiores que o DMPP, e é facilmente lixiviado (ZERULLA et al., 2001; LINZMEIER; GUTSER.; SCHMIDHALTER, 2001).

Pouco ainda é conhecido sobre o modo de ação dos inibidores de nitrificação heterocíclicos como o DCD e o DMPP. Várias substâncias químicas que mostraram significativo efeito inibidor da nitrificação são compostos nitrogenados heterocíclicos (MCCARTY; BREMMER, 1989; MCCARTY, 1999; WEISKE et al., 2001). Há evidências de que eles agem se ligando indiscriminadamente ao complexo de proteínas ligadas à membrana, que incluem a enzima amônia monooxigenase (CHAVES et al., 2006). Kleineidam et al. (2011) demonstraram que o DMPP parece atuar somente nas bactérias oxidantes de amônia, enquanto as archaeas não são influenciadas pelo inibidor.

Uma das vantagens dos inibidores de nitrificação é possibilitar o fornecimento de amônio e nitrato à planta ao mesmo tempo. O nitrato é a forma preferencial de absorção de N pela maioria das culturas. Porém, diversos estudos demonstram que muitas culturas respondem melhor ao fornecimento misto de nitrato e amônio, do que apenas uma das formas separadamente (CRUZ; PELACANI; ARAUJO, 2006; SANTOS, 2003; POLLETO, 2008).

As plantas usam energia para a incorporação do amônio nos aminoácidos, porém, ainda mais energia é necessária para reduzir o nitrato a amônio. (TRENKEL, 2010). O uso direto do amônio no metabolismo de proteínas poderá trazer economia

de energia à planta e tem um impacto positivo na síntese de poliaminas, citocininas e giberelinas (PASDA; HAHNDEL; ZERULLA, 2001; TRENKEL, 2010).

Uma vantagem adicional da nutrição com amônio é a melhor absorção de fósforo (RAHMATULLAH et al., 2006). A absorção de NH_4^+ pelas raízes da planta resulta em uma forte liberação de prótons pelas mesmas para manter seu equilíbrio de cargas causando redução do pH na rizosfera (até 2 unidades) e conseqüentemente mobilização de fosfato (CURL; TRUELOVE, 1986). O mesmo é válido para a absorção de alguns micronutrientes (MARSCHNER, 1995). O efeito da mobilização de fosfato é intensificado pela adição de um inibidor de nitrificação pelo prolongamento da permanência do NH_4^+ no solo (AMBERGER, 1992). Contudo, a absorção de fosfato somente será melhorada se o fertilizante fosfatado for aplicado diretamente na rizosfera, ou seja, na linha de plantio (TRENKEL, 2010).

Uma das principais vantagens dos inibidores de nitrificação seria redução da lixiviação de nitrato por manter o N na forma amoniacal por mais tempo no solo, o que possibilitaria menor parcelamento da aplicação de N nas culturas. Além disso, várias pesquisas demonstraram que os inibidores de nitrificação reduzem as emissões de óxido nitroso (WEISKE et al., 2001; MENÉNDEZ et al., 2006; SINGH; VERMA, 2007). Linzmeier, Gutser e Schmidhalter (2001), por exemplo, verificaram que o uso do DMPP e do DCD em sulfonitrato de amônio na cultura do trigo reduziu significativamente a emissão de N_2O ao reduzir a quantidade de nitrato livre no solo e possibilitar menor número de aplicações do fertilizante. Alguns estudos demonstraram inclusive que inibidores de nitrificação podem ser misturados a dejetos animais na aplicação no campo para redução das emissões de N_2O e aumento de produtividade das culturas adubadas (DITTERT et al., 2001, MERINO et al., 2005; MACADAM et al., 2003). Dittert et al. (2001) verificaram redução de 32% na emissão de N_2O após aplicação de esterco quando se aplicou 2 kg ha^{-1} de DMPP.

Alguns aspectos ambientais positivos altamente importantes do uso de inibidores de nitrificação podem ser elencados. As perdas reduzidas de nitrogênio não somente protegem o ambiente, mas também aumentam a eficiência no uso do nutriente, muitas vezes resultando em maior produtividade das culturas agrícolas.

Zerulla et al. (2001) resumiram as possíveis vantagens do uso de inibidores, como, redução do risco de perdas de N por lixiviação de nitrato; redução na emissão de gases nitrogenados causadores do efeito estufa, especialmente N_2O ; maior fornecimento de amônio para as plantas, frequentemente resultando em aumento de produtividade; melhor utilização do N pelas plantas e possível redução do número de aplicações do fertilizante nitrogenado.

Muitas substâncias têm sido avaliadas como inibidores de nitrificação, mas poucas estão disponíveis comercialmente ou tiveram sua eficiência agrônômica e econômica comprovada (CHEN et al., 2008). A persistência e o comportamento de um inibidor de nitrificação no solo são determinados por sua difusão na atmosfera, decomposição e degradação da molécula, movimento diferencial no solo, adsorção à argila e à matéria orgânica, bem como por fatores edáficos e ambientais como temperatura, umidade e textura do solo (PRASAD; POWER, 1995).

Uma possível desvantagem dos inibidores de nitrificação é o aumento da volatilização de NH_3 . Linzmeier¹ (1999) apud Zerulla et al. (2001) não observou maior emissão de NH_3 após aplicação de sulfonitrato de amônio com DMPP em comparação ao fertilizante sem inibidor. Porém, esses resultados dependem de propriedades do solo e foram específicos para o sulfonitrato. Com ureia pode-se supor que o risco de volatilização seria maior com uso do inibidor. Mesmo o sulfonitrato de amônio aplicado em solos alcalinos poderia sofrer maior volatilização com a aplicação de um inibidor de nitrificação.

Inibidores de nitrificação naturais também vêm sendo estudados. Ipinmoroti, Watanabe e Ito (2008) demonstraram a capacidade de exsudados radiculares de *Brachiaria humidicola* inibirem a nitrificação em dois solos do Japão. Os mesmos autores também demonstraram que a nitrificação era reduzida na rizosfera de *B. humidicola*. Fernandes et al. (2011), também demonstraram efeito inibitório da nitrificação na rizosfera de *Brachiaria brizantha*, enquanto as espécies *B. decumbens* e *B. ruziziensis* não apresentaram o mesmo efeito. No futuro espera-se

¹ LINZMEIER, W.; SCHMIDHALTER, U.; GUTSER, R. Wirkung von DMPP auf Nitrifikation und N-Versuste (Nitrat, NH_3 , N_2O) von Düngerstickstoff im Vergleich zu DCD. (German). VDLUFA-Schriftenreihe, v. 52, p. 485-488, 1999.

desenvolver sistemas agrícolas que apresentem naturalmente reduzida nitrificação, aumentando, assim, a eficiência do uso do N (SUBBARAO, 2006).

2.6 Fosfato de 3,4-dimetilpirazol (DMPP)

O inibidor de nitrificação fosfato de 3,4-dimetilpirazol (DMPP), foi desenvolvido pela empresa alemã BASF AG, em cooperação com Universidades e Institutos de Pesquisa (ZERULLA et al., 2001) e está no mercado a alguns anos inclusive no Brasil. O DMPP é um composto nitrogenado heterocíclico, sua estrutura química é apresentada na Figura 2.

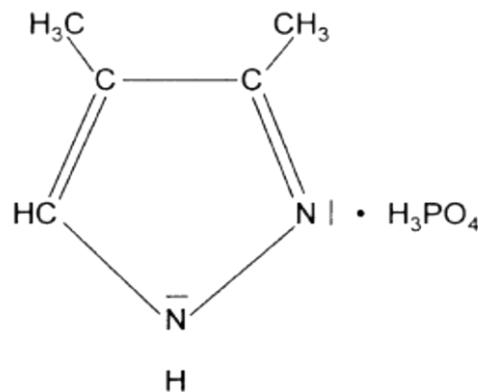


Figura 2 - Estrutura química do fosfato de 3,4-dimetilpirazol (ZERULLA et al., 2001)

O DMPP é eficaz mesmo em doses muito baixas. Uma aplicação de 0,5 a 1,5 kg ha⁻¹ (dependendo da quantidade de nitrogênio aplicada) é suficiente para inibir a nitrificação por um período de 4 a 10 semanas em condições de campo (ZERULLA et al., 2001). A duração da ação depende de condições climáticas (PASDA; HAHNDEL; ZERULLA, 2001), características do solo e da cultura (BARTH et al., 2001; PASDA; HAHNDEL; ZERULLA, 2001).

Quando comparado ao DCD, um efeito de inibição comparável ou até melhor foi obtido com uma dose dez vezes menor de DMPP (ZERULLA et al., 2001). O DMPP provou ser altamente compatível com as plantas, não ocorrendo fitotoxicidade. Até agora, não foi reportado nenhum experimento de campo no qual a aplicação de DMPP causou reação fitotóxica (ZERULLA et al., 2001). Quando

resíduos foram analisados, com exceções extremamente raras, somente traços do DMPP puderam ser detectados em plantas como trigo de inverno, batata, alface e repolho roxo, enquanto o DCD parece ser absorvido pelas plantas em concentrações maiores (ZERULLA et al., 2001).

Outra característica do DMPP é um período de permanência maior no solo quando comparado ao DCD. Devido à sua adsorção pelos colóides, o DMPP é menos móvel no solo, inibindo a nitrificação no horizonte superficial onde o fertilizante é aplicado mesmo após a simulação de alta precipitação. Portanto, a lixiviação do nitrato é eficientemente inibida pelo DMPP sob condições favoráveis a lixiviação (WISSEMEIER et al., 2001).

2.6.1 Fatores que influenciam a eficiência do DMPP no solo

A temperatura é um dos fatores mais importantes na atuação dos inibidores de nitrificação. Estudos de incubação conduzidos por Zerulla et al. (2001) na Alemanha demonstraram que a 5°C praticamente não ocorreu nitrificação do amônio aplicado na forma de SNA com DMPP, enquanto para o mesmo fertilizante aplicado sem DMPP ocorreu nitrificação de todo o amônio aplicado em 140 dias. Com aumento de temperatura para 20°C, a nitrificação total do amônio foi atingida entre 7 e 21 dias para o fertilizante sem DMPP, e 40 dias para o fertilizante com DMPP.

Irigoyen et al. (2003) estudaram o efeito da temperatura na cinética de oxidação do amônio do SNA com DMPP (0,2%) e DCD (1,6%). Ambos apresentaram eficiência semelhante, fortemente reduzida com o aumento da temperatura do solo. A capacidade de inibição dos produtos prevaleceu por uma semana, um mês e três meses, quando a temperatura do solo foi de 30, 20 e 10°C, respectivamente.

Vários parâmetros do solo influenciam diretamente na eficiência do DMPP. Abordagens monocausais não explicam satisfatoriamente a variação do efeito do DMPP e outros inibidores na nitrificação. Somente observação simultânea de vários

fatores pode explicar a intensidade do efeito do DMPP na nitrificação em condições de campo (ZERULLA et al., 2001).

Com relação à textura do solo, Barth et al. (2001) demonstraram em experimentos de incubação de curta duração, nos quais a degradação do DMPP pode ser desconsiderada, que a oxidação do NH_4^+ aplicado foi mais inibida em solos arenosos do que em argilosos. Tal fato se deve a adsorção do DMPP pelos minerais de argila, o que reduz sua capacidade de inibição ao retirá-lo da solução do solo tornando-o indisponível às bactérias responsáveis pelo processo.

Por outro lado, quando adsorvido o DMPP é mais bem protegido contra degradação microbiana e posteriormente pode ser remobilizado a uma concentração de equilíbrio suficientemente alta, resultando em capacidade inibitória prolongada em solos com maior capacidade de adsorção (BARTH et al., 2001). Experimentos de campo conduzidos com fertilizantes nitrogenados estabilizados com DMPP mostraram inibição da nitrificação por um período maior em solo franco-siltoso do que em solo franco-arenoso (LINZMEIER, 1999, apud ZERULLA et al., 2001²).

O pH e a atividade de catalase do solo também mostram correlação significativa com a capacidade de inibição do DMPP. Barth et al. (2001) mostraram que ambos apresentam pequena correlação negativa com a capacidade de inibição da nitrificação pelo DMPP, por motivo não esclarecido.

A natureza física do fertilizante também parece influenciar o funcionamento do DMPP. A aplicação do fertilizante na forma de grânulos pode ter importante implicação na adsorção e degradação do DMPP, uma vez que grandes concentrações de DMPP e NH_4^+ podem estar presentes nas proximidades do grânulo (BARTH et al., 2008, AZAM et al., 2001). Comparando a eficiência do DMPP em fertilizante líquido e granulado em dois solos, Barth et al. (2008) observaram maior eficiência no fertilizante granulado, particularmente no solo de textura mais fina.

² LINZMEIER, W.; SCHMIDHALTER, U.; GUTSER, R. Wirkung von DMPP auf Nitrifikation und N-Versuste (Nitrat, NH_3 , N_2O) von Düngerstickstoff im Vergleich zu DCD. (German). VDLUFA-Schriftenreihe, v. 52, p. 485-488, 1999

Barth et al. (2008) também compararam concentrações de DMPP no solo variando de 0,71 a 34,64 mg kg⁻¹ e não encontraram diferença significativa na quantidade de NH₄⁺ no solo após cerca de 20 dias de incubação a 25°C. O DMPP apresentou significativo efeito de inibição particularmente em condições de altos conteúdos de água, nas quais a atividade microbiana e a disponibilidade espacial do amônio não eram limitantes. Tal fato demonstra a eficácia do DMPP sob condições de alta disponibilidade de água o que é importante para a inibição da nitrificação em condições de campo.

2.6.2 Redução de lixiviação de nitrato pelo uso do DMPP

Diversos estudos relatam o efeito da adição do DMPP a fertilizantes nitrogenados, esterco e resíduos vegetais na redução da lixiviação de nitrato e aumento na absorção de nitrogênio pelas plantas em diversos tipos de solo e condições climáticas (SERNA et al., 2000; ZERULLA et al., 2001; PASDA; HAHNDEL; ZERULLA, 2001; ROCO; BLU, 2006; LINZMEIER; GUTSER; SCHMIDHALTER, 2001; WU et al., 2006; YU et al., 2007; HUA et al., 2008).

Roco e Blu (2006) observaram redução na lixiviação de nitrato quando aplicado na forma de SNA+DMPP na cultura do avezem (65 dias) em comparação com ureia nas dosagens de 150 e 300 kg ha⁻¹ de N, em experimento com vasos utilizando diferentes solos. As perdas totais de nitrogênio por lixiviação foram maiores nos tratamentos sem DMPP. Os autores observaram que a eficiência do DMPP foi mais relacionada ao conteúdo de matéria orgânica do solo do que à textura; sendo que a matéria orgânica afetou negativamente o funcionamento do inibidor.

Wu et al. (2006) também observaram redução significativa da lixiviação de NO₃⁻ e leve aumento da lixiviação de NH₄⁺ devido ao uso do DMPP em SNA e ureia em dois solos da China. As perdas totais de nitrogênio foram significativamente menores usando o inibidor em ureia (-18% solo arenoso e -31% no argiloso) e SNA (-44% no solo arenoso e -18% no argiloso). A eficiência do DMPP foi maior no solo franco-arenoso do que no solo argiloso. Os autores também observaram menor

perda de potássio nos tratamentos com DMPP, porém a diferença não foi significativa estatisticamente. Também na China, Yu et al. (2007) observaram pronunciado comportamento de movimentação vertical do nitrato nos solos tratados exclusivamente com ureia. Por outro lado, nos tratamentos com adição de DMPP não houve grande incremento na formação de nitrato quando se aumentou a dose de nitrogênio aplicado. Em tratamentos com ureia e DMPP observou-se tendência de aumento da concentração de amônio com o aumento da concentração de N aplicado até os 10 cm de profundidade do solo. O teor de NH_4^+ não aumentou abaixo da camada de 20 cm.

Em experimento de campo, desenvolvido por dois anos na China, Hua et al. (2008) estudaram os efeitos do DMPP na lixiviação de N mineral, nos organismos nitrificadores e enzimas desnitrificadoras do solo em um sistema de rotação arroz-canola. Foram utilizados três tratamentos, sendo: ureia, ureia com DMPP e ausência de fertilizantes (testemunha). No tratamento com a aplicação de ureia com DMPP as concentrações médias de amônio lixiviadas aumentaram entre 19,1 e 24,3%, mas as concentrações médias de nitrato lixiviado foram reduzidas entre 44,9 e 56,6% em comparação ao tratamento com ureia sem DMPP. A população de bactérias oxidantes de amônia, a atividade da redutase de nitrato e do nitrito no solo também foram significativamente reduzidas.

Díez et al. (2008) avaliaram a lixiviação de nitrato e a produtividade de milho irrigado adubado com ureia com DMPP a campo, por duas safras em solo arenoso e alcalino da Espanha. Nos tratamentos com DMPP foi verificado acúmulo de amônio no solo por mais de 60 dias. Os níveis de nitrato foram significativamente maiores nos primeiros 15 a 30 dias após a adubação nos tratamentos sem DMPP, enquanto nos tratamentos com DMPP as concentrações de NO_3^- foram similares ao controle sem fertilizantes. Os resultados revelaram redução de até 30% na lixiviação de nitrato nos tratamentos que receberam DMPP. Acrescenta-se que, o efeito foi mais pronunciado no ano em que a quantidade de água drenada foi maior. Esse estudo demonstrou que mesmo em condições de alta temperatura o DMPP pode ser eficiente na inibição da nitrificação. No entanto, não houve diferença significativa na produtividade em nenhum dos tratamentos, pois aparentemente, o nitrogênio não foi limitante.

Também na Espanha, Serna et al. (2000) realizaram dois experimentos avaliando o efeito inibitório do DMPP aplicado ao sulfonitrato de amônio em solo franco-arenoso alcalino cultivado com laranjeira, com a temperatura durante o período experimental variando entre 16 a 32°C. No primeiro, realizado em casa de vegetação, os autores verificaram que a adição do DMPP ao SNA resultou em maiores teores de amônio e menores teores de nitrato no solo, maior absorção de N pelas plantas (24% a mais de N nas plantas tratadas) e menor perda do nutriente por lixiviação (41,1% para SNA e 18,1% para SNA+DMPP). No segundo experimento, realizado a céu aberto, plantas com seis anos de idade cultivadas em vasos receberam SNA com e sem DMPP. Após 120 dias 68,5% do N aplicado como SNA e 53,1% do N aplicado como SNA+DMPP haviam sido lixiviados abaixo dos 60 cm do perfil do solo. O teor de N das folhas de citros tratadas com DMPP foi 44% maior do que os das plantas não tratadas. Os autores calcularam que 27,7% do N aplicado como SNA e 36,4% do N aplicado como SNA+DMPP permaneceram no solo ao final do experimento (análise até 75 cm de profundidade). As estimativas da quantidade de N absorvida pelas plantas e do N mineral encontrado no solo e na água de drenagem indicaram que 27,7% do N aplicado como SNA+DMPP e 20,9% do N aplicado como SNA, foram imobilizados pela microbiota do solo ou perdidos por desnitrificação ou volatilização. Aparentemente, elevados teores de NH_4^+ no solo podem aumentar a imobilização de N porque os microrganismos responsáveis pelo processo preferem N-NH_4^+ a N-NO_3^- (BROADBENT; TYLER, 1962).

Pasda, Hahndel e Zerulla, (2001) relataram aumento de produtividade devido ao uso do DMPP mais pronunciado em solos leves e em condições de maior precipitação na época de aplicação do fertilizante. Essa relação indica que em situação de maior risco de lixiviação há maior probabilidade da adição do DMPP resultar em aumento na eficiência do uso do nitrogênio e aumento de produtividade.

2.6.3 Efeito na produtividade das culturas

Os benefícios ambientais do uso de inibidores de nitrificação estarão presentes independentemente da resposta na produtividade. Porém, a maioria dos

produtores provavelmente só adotará voluntariamente a prática que trazer também benefícios econômicos ao invés de somente os ambientais (FRYE et al., 2005).

Dentre as vantagens frequentemente conferidas aos fertilizantes com inibidor de nitrificação está o aumento na produtividade, a possibilidade de economizar nitrogênio e reduzir o número de aplicações (TRENKEL, 2010). Essas vantagens têm sido obtidas com o uso de fertilizantes contendo DMPP em numerosos experimentos sob condições da Europa ocidental e oriental (PASDA; HAHNDEL; ZERULLA, 2001). Para a maioria das culturas, aumentos significativos de produtividade foram obtidos com o uso do DMPP em comparação ao fertilizante convencional.

A inibição da formação de nitrato nem sempre se reflete em aumento de produtividade das culturas. Frye et al. (1989) observaram que o aumento de produtividade devido ao uso do DCD geralmente era observado nas doses mais baixas de N, indicando que a prevenção na perda do nutriente apresentava efeito significativo no rendimento das culturas somente na parte mais baixa da curva de resposta, onde o N é um fator limitante. Assim, em alguns estudos não se observa aumento na produtividade com o uso do inibidor porque o nitrogênio não é limitante para a cultura nas doses avaliadas.

Uma resposta ao inibidor de nitrificação na produtividade, contudo, ocorre somente se o nitrogênio for perdido por lixiviação ou nitrificação, e essas perdas resultarem em uma deficiência de nitrogênio suficiente para reduzir a produtividade da cultura no tratamento sem inibidor de nitrificação (FRYE et al., 2005).

Alguns estudos atribuem ainda a ausência de resposta na produtividade das culturas ao aumento na absorção microbiana de amônio na presença de carbono disponível no solo, visto que os microrganismos preferem amônio a nitrato (BRONSON et al., 1989; CLAY, MALZER; ANDERSON, 1990; CHAVES et al., 2006).

Pasda, Hahndel e Zerulla (2001) observaram que o efeito do DMPP no aumento na produtividade era incrementado quanto mais leve fosse o solo e maior o volume de precipitação durante o ciclo da cultura. Em uma série de experimentos conduzidos na França, Itália, Alemanha e Espanha, os autores verificaram que a

aplicação do DMPP com sulfonitrato de amônio e ureia foi capaz de aumentar significativamente a produtividade e a qualidade dos produtos de várias culturas (Tabela 1). Locais com diversos tipos de solo e condições climáticas foram escolhidos. Nos experimentos com hortaliças, o uso de DMPP resultou em menor concentração de nitrato na matéria fresca, e as plantas frequentemente apresentavam coloração verde mais intensa. O DMPP promoveu efeito negativo na concentração de proteína bruta do trigo de inverno e na produtividade do espinafre, conhecida acumuladora de nitrato.

Tabela 1 - Aumento médio de produtividade pelo DMPP nas culturas avaliadas por Pasda, Hahndel e Zerulla (2001)

Cultura	Aumento médio de produtividade (t ha⁻¹)
Trigo de Inverno	0,25
Arroz irrigado	0,29
Milho (grão)	0,24
Batata (tubérculo)	1,9
Beterraba (açúcar corrigido)	0,24
Cenoura	4,9
Alface-de-cordeiro	1,9
Cebola	0,5
Rabanete	4,6
Alface	1,4
Couve-flor	5,2
Alho-porró	1,7
Aipo	2,2

Em um solo arenoso na Espanha, Quiñones et al. (2009) estudaram o efeito da aplicação do sulfato de amônio com e sem DMPP nas variações sazonais de nitrato e amônio no solo, concentração de Fe e N nas folhas, qualidade e produtividade de frutos de laranja. Os autores observaram que a concentração de amônio nas camadas de 0-20 e 20-40 cm do solo foi significativamente maior no tratamento com DMPP, enquanto a concentração de nitrato foi significativamente maior no solo adubado sem o inibidor. A adição do inibidor aumentou significativamente o número final de frutos por árvore no primeiro (18%) e no segundo (12%) ano do experimento. O inibidor também aumentou a produtividade total no segundo ano do estudo. No primeiro ano, ocorreu diminuição do peso dos

frutos nas árvores tratadas com DMPP, resultando em menor incremento da produtividade total. Mesmo reduzindo o número de aplicações do fertilizante com DMPP o ganho de produtividade foi mantido. O teor de sólidos solúveis totais também foi significativamente maior nos tratamentos com DMPP.

As concentrações de N e Fe nas folhas das brotações de primavera foram significativamente maiores no tratamento com DMPP nos experimentos conduzidos por Quiñones et al. (2009), Serna et al. (2000) e Bañuls et al. (2001). Essas observações provavelmente se devem ao fato de que a manutenção de altas concentrações de N-NH_4^+ no solo tratado com DMPP incorporado ao fertilizante aumenta a absorção de N pelas plantas (SERNA et al., 2000; BAÑULS et al., 2001) como resultado de uma liberação mais contínua de NO_3^- no solo e redução das perdas do mesmo por lixiviação e desnitrificação. É relatado que as forma de aplicação do N influenciam no pH do solo (MARSCHNER, 1995; MENGEL e KIRKBY, 2001). Esses autores indicaram que a alta relação $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$ na adubação pode induzir a redução no pH da rizosfera. A acidificação da rizosfera associada à predominância de amônio induzida pelo inibidor melhora a nutrição da planta pelo aumento de disponibilidade de nutrientes, tais como o P, Fe, Mn e Cu (GAHOONIA, 1993; PASDA; HAHNDEL; ZERULLA, 2001).

Na Argentina, Rodriguez et al. (2003) avaliaram o uso do DMPP na cultura da laranja utilizando a dose de 150 kg ha^{-1} na forma de sulfonitrato de amônio com e sem DMPP, em experimento de dois anos conduzido em condição de campo. No primeiro ano, os autores observaram aumento de 11% na produtividade de frutos com uso do DMPP. No segundo, houve incremento de 24% na produtividade. Ademais, nenhum dos parâmetros de qualidade da fruta foi alterado com o uso do inibidor.

No Chile, Roco e Blu (2006) observaram que a aplicação de SNA+DMPP foi eficaz na redução da nitrificação em dois solos chilenos (textura franca e franco-arenosa), cultivado com brócolis e azevém. Em situações nas quais maior lixiviação de nitrato era esperada, o SNA+DMPP foi capaz de aumentar significativamente a produção de matéria seca nas culturas de brócolis e azevém devido ao aumento na eficiência no uso do fertilizante, mesmo sendo aplicando em uma única vez após o plantio/semeadura. Esses mesmos autores relataram que o desempenho do DMPP

foi mais influenciado pela quantidade de matéria orgânica dos solos estudados do que pelo conteúdo de argila. No solo com menor conteúdo de matéria orgânica (1,7 a 2,3%) o DMPP apresentou melhor desempenho na inibição da nitrificação em relação ao solo com maior conteúdo (15,7 a 12,7%).

Arregui e Quemada (2008), trabalhando com adubação nitrogenada em trigo conduzido em condição de campo por dois anos em solo argiloso no norte da Espanha, não verificaram aumento de produtividade devido ao uso do DMPP aplicado com sulfonitrato de amônio. Concluíram que, nem mesmo o parcelamento da aplicação do fertilizante sem inibidor, em duas vezes, promoveu aumento significativo de produtividade.

No Brasil, alguns experimentos têm sido desenvolvidos para avaliar a eficiência do DMPP aplicado ao SNA no sentido de aumentar a produtividade das culturas ou reduzir o número de aplicações de N, porém sem redução na produtividade. Até o momento, estudos conduzidos a campo não têm mostrado aumento de produtividade devido ao uso do DMPP nas condições brasileiras.

Apenas um estudo, desenvolvido em Uberlândia por Lana et al. (2008), mostrou aumento de produtividade significativo na cultura do milho no tratamento com sulfonitrato de amônio com DMPP em comparação ao tratamento com ureia. Carvalho e Ferreira (2009) compararam diversas fontes e épocas de aplicação de N na cultura do algodão em um Latossolo Argiloso em Goiás e verificaram que o sulfonitrato de amônio com DMPP (produto comercial Entec 26) não resultou em aumento de produtividade em comparação as outras fontes como ureia e sulfato de amônio. Ademais, quando aplicado em dose única por ocasião da emergência apresentou desempenho inferior as outras fontes. Camacho et al. (2009) comparam o SNA com DMPP em ralação à ureia na adubação do algodoeiro em Latossolo Vermelho argiloso no Mato Grosso do Sul em três doses: 60, 80 e 100 kg ha⁻¹ de N e também não encontraram diferenças entre as fontes. Conforme discutido, porém, espera-se menor desempenho dos inibidores de nitrificação em solos argilosos, devido ao menor funcionamento do inibidor e a menor susceptibilidade do N aplicado a lixiviação.

Considerando o que foi exposto acima, partiu-se da hipótese de que o uso do DMPP em fertilizantes amídicos ou amoniacais pode promover menor teor de N-

nítrico e maior teor de N-amoniaco no solo. Assim, a perda de N por lixiviação e emissão de gases nitrogenados seria menor, aumentando a eficiência do uso de N pela planta e melhorando a absorção de nutrientes como N e P. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do inibidor de nitrificação DMPP em ureia e sulfonitrato de amônio aplicados em solos com texturas contrastantes na nitrificação, lixiviação de N, na eficiência de uso do nitrogênio e absorção de nutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S) pelo algodoeiro cultivado em colunas de lixiviação.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Experimento 1 – Avaliação do DMPP aplicado em ureia e sulfonitrato de amônio na inibição da nitrificação em três solos

3.1.1 Montagem e condução do experimento

O experimento foi desenvolvido entre agosto e novembro de 2011 no Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, da Universidade de São Paulo, em Piracicaba (SP).

Foram utilizados três solos: Neossolo Quartzarênico (NQ) coletado no município de Brotas, em área de mata (SP); Latossolo Vermelho Amarelo (LVA) coletado em Nova Odessa (SP), em área de pastagem e um Latossolo Vermelho (LV), coletado em Rio das Pedras (SP), também em área de pastagem. As características químicas e físicas dos solos estão nas Tabelas 2 e 3 respectivamente. A análise de nitrogênio total, realizada pelo método de Kjeldahl (CANTARELLA e TRIVELIN, 2001), revelou $60,2 \text{ mg kg}^{-1}$ no NQ, $673,4 \text{ mg kg}^{-1}$ no LVA e $1.995,0 \text{ mg kg}^{-1}$ no LV. Assim as relações C/N obtidas foram de 17 no LVA, 6 no LV e 89 no NQ.

Amostras de terra foram coletadas das camadas de 0 a 20 cm e posteriormente secas a sombra e peneiradas (peneiras com diâmetro de malha de 2 mm). Com base na análise de solo foi feita adição de carbonato de cálcio para elevar a saturação de bases para 70% (SILVA; RAIJ, 1996), o pH (H_2O) final ficou entre 5,5 e 6,0. Em seguida, o solo foi umedecido a 60% da capacidade de campo e deixado em repouso por 10 dias em sacos plásticos para recuperar a flora microbiana (MARCELINO, 2009).

Foram utilizados os fertilizantes ureia (45% N) e sulfonitrato de amônio (18,5% N-NH_4^+ ; 7,5% N-NO_3^- e 13% S), com e sem o inibidor de nitrificação DMPP. A dose de DMPP utilizada foi de 1,0% em massa com base no teor de N amoniacal, para o SNA, ou amídico, no caso da ureia (ZERULLA et al., 2001). Os fertilizantes tratados e não tratados com DMPP foram fornecidos pela empresa K+S Nitrogen GmbH da Alemanha.

Tabela 2 - Caracterização química inicial dos solos utilizados no experimento

Solo	pH	M.O.	P	S	K	Ca	Mg	Al	H+Al	S.B.	C.T.C.	V	m
		$g\ dm^{-3}$	$mg\ dm^{-3}$	$mmol_c\ dm^{-3}$									
LVA	4,3	20	6	19	1,9	6	2	9	47	9,9	56,8	17	48
LV	5,6	24	134	12	3	34	19	0,01	22	56,0	78,4	71	0
NQ	3,6	8	3	8	1	1	1	12	42	3,0	45,2	7	80

pH: acidez ativa em $CaCl_2$ ($0,01\ mol\ L^{-1}$). M.O.: matéria orgânica pelo método dicromato/colorimétrico. P, K, Ca e Mg: extração pela resina trocadora de íons. Al: alumínio trocável por titulometria. H+Al: acidez potencial por pH SMP. S: $(S-SO_4)^{2-}$ extraído com $Ca(H_2PO_4)_2$ $0,01\ mol\ L^{-1}$ determinado por turbidimetria.

Tabela 3 - Caracterização granulométrica dos solos utilizados no experimento

Solo	Areia	Silte	Argila
	$g\ kg^{-1}$		
LVA	592	107	301
LV	405	145	450
NQ	916	34	50

Após o repouso, os solos foram distribuídos em copos de polietileno descartáveis, com volume de 250 mL, com tampa, cada um representando uma parcela do experimento. Cada copo recebeu 50 gramas de solo úmido. Os fertilizantes foram dissolvidos em água e aplicados na superfície do solo com micropipeta na dose de 150 mg de N amoniacal ou amídico por kg de solo. Após a aplicação do fertilizante foram aplicados mais 4 mL de água para recompor a umidade perdida durante o período de repouso e promover melhor incorporação do fertilizante ao solo. Cada fertilizante representou um tratamento, para qual foram utilizadas quatro repetições. Ademais, contou-se também com um tratamento controle. Ou seja, para cada solo houve uma parcela experimental testemunha, com quatro repetições, sem a aplicação de N. O delineamento experimental utilizado neste estudo foi o inteiramente casualizado, e a composição dos tratamentos está descrita na Tabela 4.

Tabela 4 - Descrição dos tratamentos

Tratamento	Solo
Controle	NQ
SNA	NQ
SNA+DMPP	NQ
UR	NQ
UR+DMPP	NQ
Controle	LVA
SNA	LVA
SNA+DMPP	LVA
UR	LVA
UR+DMPP	LVA
Controle	LV
SNA	LV
SNA+DMPP	LV
UR	LV
UR+DMPP	LV

Os solos foram incubados em câmara escura com temperatura controlada a 25°C por seis períodos de avaliação: 0, 7, 15, 30, 45 e 60 dias. Semanalmente os copos eram pesados e a massa de água perdida era repostada. Os copos foram mantidos com a tampa levemente encaixada para reduzir a perda de água por evaporação (MARCELINO, 2009).

3.1.2 Determinações analíticas

Após o período de incubação, os copos receberam 125 mL de água deionizada, foram agitados por 5 minutos (180 rpm em agitador de mesa) e os valores de pH da solução determinados após decantação. Em seguida, 125 mL de solução de cloreto de potássio 2 mol L⁻¹ eram adicionados, os copos foram agitados com a mão vigorosamente e deixados em repouso por 24 horas. Em seguida, uma alíquota de 50 mL foi filtrada e armazenada em geladeira para análise de nitrogênio nítrico e amoniacal por espectrofotometria em sistema de injeção em fluxo (FIA), no Laboratório de Ecologia Isotópica do CENA/USP. A análise de nitrogênio nítrico foi realizada de acordo com Gine et al. (1980), e a de nitrogênio amoniacal de acordo com Krug, Hansen e Ruzicka et al. (1979).

3.1.3 Análises dos resultados

Os resultados foram submetidos às análises estatísticas utilizando-se o ambiente estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011) com o pacote *Agricolae* (MENDIBURU, 2012). A comparação de médias entre tratamentos dentro de cada solo e período de incubação foi efetuada por meio do teste da diferença mínima significativa (*DMS*) ao nível de significância de 5%.

Para cada período de incubação, a inibição da nitrificação foi calculada por meio da equação descrita por Cantarella e Zambrosi (2010):

$$IN = \frac{(N - NO_3^-_{fertilizante} - N - NO_3^-_{solo}) - (N - NO_3^-_{fertilizante+DMPP} - N - NO_3^-_{solo})}{(N - NO_3^-_{fertilizante} - N - NO_3^-_{solo})}$$

Em que: $N - NO_3^-_{fertilizante}$ é a concentração de nitrogênio nítrico no tratamento com fertilizante sem DMPP; $N - NO_3^-_{fertilizante+DMPP}$ é a concentração de nitrogênio nítrico no tratamento com fertilizante com DMPP; $N - NO_3^-_{solo}$ é a concentração de nitrogênio nítrico no controle.

3.2 Experimento 2 - Efeito do uso de inibidor de nitrificação DMPP em ureia e sulfonitrato de amônio no crescimento do algodoeiro e na lixiviação de N no solo

3.2.1 Montagem e condução do experimento

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação no Centro de Energia Nuclear na Agricultura, da Universidade de São Paulo, em Piracicaba (SP), no período de fevereiro a abril de 2011. A temperatura média foi de 25°C, variando de 15 a 35°C. Foi utilizado o cultivar de algodão Delta Opal.

Foram montadas colunas de PVC de 60 cm de altura por 15 cm de diâmetro (Figuras 3A e 3C). As paredes internas dos tubos receberam uma camada irregular de silicone e dois anéis de PVC (1 cm) posicionados aos 20 e 40 cm de altura para reduzir o escoamento preferencial de água. A extremidade inferior recebeu tampões de PVC com orifício que permitia a saída da água lixiviada. O lixiviado era conduzido por um tubo de acrílico até uma garrafa plástica onde era coletado (Figura 3B).

Foram utilizados três solos: Neossolo Quartzarênico (NQ), coletado no município de Brotas em área de mata (SP); Latossolo Vermelho Amarelo (LVA) coletado em Nova Odessa (SP), em área de pastagem e um Latossolo Vermelho (LV), coletado em Rio das Pedras (SP), também em área de pastagem. Suas características químicas e físicas estão apresentadas nas Tabelas 5 e 6, respectivamente. Procurou-se coletar solos com texturas e estrutura diferentes, de modo a ter solos representativos dos solos agrícolas do Estado de São Paulo, Brasil.

Os solos foram coletados por camada: 0 a 15 cm, 15 a 35 cm e 35 a 55 cm, em seguida, secos a sombra e, por fim, peneirados (2 mm) e armazenados separadamente. Carbonato de cálcio e carbonato de magnésio foram adicionados para elevar a saturação de bases para 70% e o teor de magnésio para 8 mmol_c dm⁻³ (SILVA; RAIJ, 1996). O teor de fósforo foi elevado para 200 mg dm⁻³ com aplicação de superfosfato triplo (Ca(H₂PO₂)₂) finamente moído (MALAVOLTA, 1980). Em seguida, o solo foi umedecido a 20% da capacidade de campo e colocado nas colunas, de modo que cada camada fosse mantida em sua devida profundidade.

Cada coluna recebeu 12 kg de solo, deixando-se cerca de 5 cm na extremidade superior sem solo. A extremidade inferior das colunas recebeu uma camada fina de areia por cima de uma camada de manta de drenagem para cobrir o dreno da coluna e evitar entupimento. As colunas foram então mantidas em repouso por cerca de 4 meses recebendo irrigações periódicas para manter o solo úmido e favorecer a eliminação do excesso de nitrogênio mineralizado durante o manuseio do solo. Nesse período foram aplicados cerca de 2 litros de água por coluna.



Figura 3 – Visão geral do segundo experimento. A: colunas de lixiviação com plantas de algodão aos 20 dias após a emergência. B: aparato para coleta do extrato lixiviado abaixo das colunas de lixiviação. C: colunas de lixiviação aos 45 dias após a emergência das plantas

A semeadura foi realizada em 27/02/2011 colocando-se 10 sementes por coluna. Após a emergência, as plântulas em excesso foram eliminadas deixando apenas uma plântula por coluna.

As colunas foram irrigadas semanalmente com água deionizada em quantidade suficiente para provocar lixiviação. A água foi aplicada com béquer, em

pequenas doses de modo a evitar acúmulo excessivo de água na superfície da coluna. Todas as colunas receberam rigorosamente a mesma quantidade de água. Durante o cultivo do algodão, cada coluna recebeu um total de 4.670 mL de água. A irrigação foi feita ao menos uma vez por semana aplicando-se volume suficiente para causar lixiviação. O extrato percolado foi coletado no dia posterior à irrigação, quando já não se observava água escorrendo das colunas. O volume de água percolada foi medido e uma alíquota de 50 mL coletada, conservada com ácido sulfúrico (1%, v/v) e mantida em geladeira a 4°C até ocasião da análise. Nos dias mais quentes, volume menor de água foi aplicado nas colunas apenas para suprir a necessidade de água da planta, evitando que ocorresse lixiviação.

Foram utilizadas duas fontes de N: ureia (45% N) e sulfonitrato de amônio (SNA - 18,5% N-NH₄⁺, 7,5% N-NO₃⁻ e 13% S), com e sem o inibidor de nitrificação DMPP. A dose de DMPP utilizada foi de 1,0% em massa com base no teor de N amoniacal, para o SNA, ou amídico, para ureia (ZERULLA et al., 2001). Os fertilizantes tratados e não tratados com DMPP foram fornecidos pela empresa K+S Nitrogen GmbH da Alemanha.

A dose de N aplicada por coluna foi calculada para equivaler a uma aplicação de 120 kg ha⁻¹ de N em uma lavoura de algodão com espaçamento entre linhas de 0,8 m, considerando 0,15 m de linha, de acordo com o diâmetro do vaso (ROSOLEM; OLIVEIRA; FOLONI, 2003). Desse modo, aplicou-se 1.631 mg de N por coluna parcelados em duas vezes, sendo um terço da dose uma semana antes da semeadura, e dois terços cerca de 30 dias após a primeira. Os fertilizantes foram dissolvidos em água e aplicados na superfície do solo. Como a superfície da coluna era pequena, não havia espaço suficiente para distanciar o fertilizante da semente, assim optou-se por aplicar o fertilizante antes da semeadura e realizar irrigação para dispersão dos fertilizantes evitando assim morte dos embriões (semente) por efeito da salinização ou aumento excessivo de pH pela hidrólise da ureia. Junto com a aplicação de N foi realizada aplicação de 2,2 g de potássio na forma de cloreto de potássio nos solos LVA e NQ, seguindo o mesmo parcelamento utilizado para o N. Os micronutrientes foram aplicados em todas as colunas por meio de solução contendo 224 mg de boro (H₃BO₃), 20 mg de manganês (MnSO₄), 60 mg de zinco (ZnSO₄) e 15 mg de cobre (CuSO₄), conforme Malavolta (1980).

Tabela 5 - Caracterização química inicial dos solos utilizados no experimento

Solo	Profundidade	pH	M.O.	P	S	K	Ca	Mg	Al	H+Al	S.B.	C.T.C.	V	m	
	<i>cm</i>		<i>g dm⁻³</i>	<i>mg dm⁻³</i>		<i>mmol_c dm⁻³</i>									<i>%</i>
LVA	0 - 15	4,3	20	6	19	1,9	6,0	2	9	47	9,9	56,8	17	48	
LVA	15 - 35	4,0	12	6	55	0,9	4,0	1	14	47	5,9	52,8	11	70	
LVA	35 - 55	3,9	8	3	61	0,7	4,0	1	13	38	5,7	43,7	13	70	
LV	0 - 15	5,6	24	134	12	3,0	34	19	0,01	22	56,0	78,4	71	0	
LV	15 - 35	5,6	38	147	15	11,0	34	17	0,01	25	62,0	86,9	71	0	
LV	35 - 55	5,6	17	75	20	6,5	28	15	0,01	22	49,5	71,9	69	0	
NQ	0 - 15	3,6	8	3	8	1,0	1	1	12	42	3,0	45,2	7	80	
NQ	15 - 35	3,8	8	2	8	1,0	1	1	12	38	2,6	40,6	6	82	
NQ	35 - 55	3,7	5	3	19	1,0	1	1	11	34	2,4	36,6	7	82	

pH: acidez ativa em CaCl_2 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$). M.O.: matéria orgânica pelo método dicromato/colorimétrico. P, K, Ca e Mg: extração pela resina trocadora de íons. Al: alumínio trocável por titulometria. H+Al: acidez potencial por pH SMP. S: $(\text{S-SO}_4)^{-2}$ extraído com $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ determinado por turbidimetria.

Tabela 6 - Caracterização granulométrica dos solos utilizados no experimento

Solo	Profundidade	Areia	Silte	Argila
	<i>cm</i>	<i>g kg⁻¹</i>		
LVA	0 - 15	592	107	301
LVA	15 - 35	562	137	301
LVA	35 - 55	576	123	301
LV	0 - 15	405	145	450
LV	15 - 35	405	145	450
LV	35 - 55	464	85	451
NQ	0 - 15	916	34	50
NQ	15 - 35	919	31	50
NQ	35 - 55	899	26	75

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos, três solos e quatro repetições, conforme descrito na Tabela 7.

Tabela 7 - Descrição dos tratamentos

Fertilizante	Solo
Controle	NQ
SNA	NQ
SNA+DMPP	NQ
UR	NQ
UR+DMPP	NQ
Controle	LVA
SNA	LVA
SNA+DMPP	LVA
UR	LVA
UR+DMPP	LVA
Controle	LV
SNA	LV
SNA+DMPP	LV
UR	LV
UR+DMPP	LV

3.2.2 Análise de nitrogênio e pH do solo

Por ocasião da coleta das plantas, o solo foi retirado das colunas separando-se as profundidades de 0 a 15, 15 a 35 e 35 a 55 cm, em seguida pesado e amostrado. As amostras de solo foram armazenadas em câmara fria até o momento das análises. As análises de nitrogênio nítrico (N-NO_3^-) e amoniacal (N-NH_4^+) foram realizadas conforme descrito por Cantarella e Trivelin (2001). Foram pesados 10 g de solo fresco de cada amostra e adicionados 50 mL de KCl 1 mol L⁻¹. A mistura foi agitada por 1 hora a 200 rpm e deixada em repouso por 30 minutos. Em seguida, a amostra foi filtrada, sendo uma alíquota de 30 mL destilada com óxido de magnésio para recuperação do N-NH_4^+ e em seguida com “Liga de Devarda” para recuperação de N-NO_3^- . A amônia resultante da destilação foi recolhida em solução ácido bórico indicador e titulada com ácido sulfúrico 0,05 N em um dosador automático. Uma alíquota de 100 g de amostra foi seca em estufa até peso constante para determinação da umidade das amostras. Assim, após a análise as concentrações de N nítrico e amoniacal determinadas foram corrigidas pelo teor de umidade das amostras.

A análise de pH em cloreto de cálcio foi realizada de acordo com Silva et al. (2009). Uma alíquota de 10 cm³ de solo seco foi tomada de cada amostra e misturada com 25 mL de solução de cloreto de cálcio 0,01 mol L⁻¹. A mistura foi agitada e deixada em repouso por 15 minutos, em seguida, agitada novamente por cinco minutos e deixada em repouso por 30 minutos para então ser realizada leitura em pHmetro de bancada.

3.2.3 Análise de nitrogênio na água percolada

A concentração de nitrogênio nítrico e amoniacal foi determinada na água percolada das colunas por meio do método semi-micro Kjeldahl conforme Cantarella e Trivelin (2001). Adicionou-se ao balão de destilação 10 mL da amostra de água e completou-se o volume para 30 mL com água deionizada. Em seguida, adicionaram-se 200 mg de óxido de magnésio calcinado e procedeu-se a destilação para análise do amônio. A amônia resultante foi capturada em solução de ácido bórico com indicador verde de bromocresol que, em seguida, foi titulada com ácido sulfúrico 0,05 N em dosador automático. Para análise do teor de nitrato o procedimento foi repetido adicionando-se 200 mg de “Liga de Devarda” ao balão de destilação.

3.2.4 Produção de matéria seca e composição mineral das plantas

Aos 60 dias após a emergência, a parte aérea e as raízes das plantas foram coletadas, lavadas em água deionizada e secas em estufa a 60°C, por 90 horas. A produção de matéria seca foi determinada para a parte aérea e a raiz separadamente. As determinações de nitrogênio, potássio, cálcio, magnésio e enxofre foram efetuadas conforme metodologia proposta por Malavolta, Vitti e Oliveira (1997). Para a determinação do nitrogênio foi utilizada digestão sulfúrica e análise pelo método semi-micro Kjeldahl. Para os demais elementos foi empregada digestão nítrico-perclórica seguida de análise por espectrometria de absorção atômica para cálcio e magnésio, fotometria de chama para potássio e turbidimetria do cloreto de bário para enxofre.

3.2.5 Avaliação da eficiência do uso do nitrogênio

Para avaliar a eficiência do uso do nitrogênio pelas plantas foram utilizadas as fórmulas adaptadas de Fageria, Santos e Cutrim et al. (2007):

- Eficiência agronômica: $(EA) = (MS_{cf} - MS_{sf}) / (QNa)$, dada em $kg\ kg^{-1}$, em que MS_{cf} é a produção de matéria seca total com fertilizante nitrogenado; MS_{sf} é a produção de matéria seca total sem fertilizante nitrogenado e QNa é a quantidade de N aplicado em quilograma.
- Eficiência fisiológica $(EF) = (MS_{cf} - MS_{sf}) / (AN_{cf} - AN_{sf})$, expressa em $kg\ kg^{-1}$, em que MS_{cf} é a produção de matéria seca total com fertilizante nitrogenado; MS_{sf} é a produção de matéria seca total sem fertilizante nitrogenado; AN_{cf} é a acumulação de N na planta com fertilizante nitrogenado e AN_{sf} é a acumulação de N na planta, sem fertilizante nitrogenado.
- Eficiência de recuperação $(ER) = 100(AN_{cf} - AN_{sf} / QNa)$, é definida em porcentagem, em que AN_{cf} é a acumulação de N na planta, com fertilizante nitrogenado; AN_{sf} é a acumulação de N na planta, sem fertilizante nitrogenado; e QNa é a quantidade de N aplicado.

3.2.6 Atividade das enzimas redutase do nitrato e urease

A atividade da enzima redutase do nitrato [EC 1.6.6.1] foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Mulder, Boxma e Veen (1959). No início do florescimento foi coletada a folha utilizada para diagnose foliar, segundo Malavolta, Vitti e Oliveira (1997), sendo representada pela terceira folha expandida contando do ápice para baixo. Uma amostra de 200 mg do tecido foliar foi picado e incubado por 2 horas em uma solução de KNO_3 em tampão fosfato. Após a incubação, uma alíquota de 1 mL do meio foi amostrada para análise de NO_2^- . Adicionou-se 1 mL de ácido sulfanílico e HCl a 20% para paralisar a reação anterior. Em seguida, foi adicionado 1 mL de alfa-naftalamina e o extrato líquido foi lido em colorímetro a 560 nm. O cálculo da concentração de nitrito, bem como a quantificação da atividade da redutase do nitrato foi efetuada com base em reta padrão de nitrito.

A atividade da enzima urease [EC 3.5.1.5] foi determinada conforme metodologia descrita por Hogan, Swift e Done (1983). Uma alíquota de 200 mg da mesma amostra utilizada para análise da redutase do nitrato foi picada e incubada em solução de ureia em tampão fosfato por 3 horas a 30°C, com leve agitação a cada 5 minutos. Após a incubação, uma alíquota de 0,2 mL foi separada para análise de NH₃ conforme metodologia proposta por McCullough (1967). O teor de N-NH₄⁺ foi determinado com base em comparação com curva padrão.

3.2.7 Análises dos resultados

Os resultados foram submetidos a análises estatísticas utilizando-se o ambiente estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011) com o pacote *Agricolae* (MENDIBURU, 2012). Foram empregados testes de Shapiro-Wilki para verificar se os dados seguiam distribuição normal e o teste de Bartlett para verificação da homogeneidade de variância entre tratamentos, requisitos básicos da análise de variância (teste F). Porém, observou-se que a maioria das variáveis não seguiram a distribuição normal e nem tinham variâncias homogêneas entre tratamentos. Por esta razão, optou-se por utilizar o teste de Kruskal–Wallis, o qual é um teste não paramétrico para a comparação de médias dos tratamentos. Em função dos níveis de significância, procederam-se as comparações de médias entre os tratamentos dentro de cada solo, bem como as médias entre solos, considerando cada tratamento.

3.3 Experimento 3 – Efeito do DMPP em ureia na recuperação de ^{15}N do fertilizante na planta e no solo na cultura do algodão

3.3.1 Montagem e condução do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Centro de Energia Nuclear na Agricultura, da Universidade de São Paulo, em Piracicaba (SP), no período de outubro de 2011 a janeiro de 2012. Foi utilizado o cultivar de algodoeiro Delta Opal. A temperatura média oscilou em torno dos 25°C e a umidade relativa em torno de 70%, conforme a Figura 4.

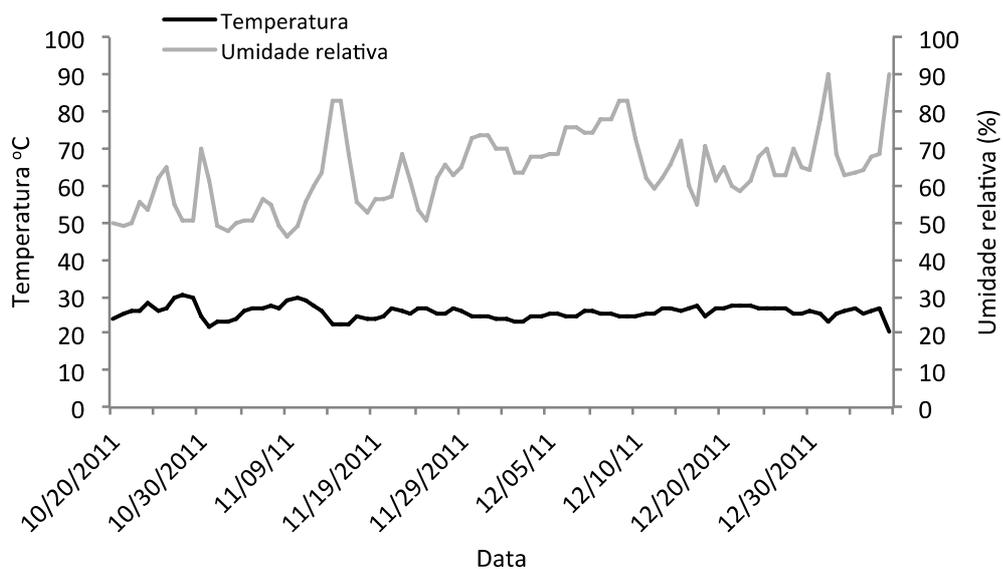


Figura 4 – Registro de temperatura e umidade no interior da casa-de-vegetação durante o cultivo do algodão

Foram montadas colunas de PVC de 60 cm de altura por 15 cm de diâmetro (Figura 5C). As paredes internas dos tubos receberam uma camada irregular de silicone e três anéis de PVC (1 cm) posicionados aos 15, 30 e 45 cm de altura para reduzir o escoamento preferencial de água (Figura 5A). A extremidade

inferior recebeu tampão de PVC com orifícios que permitiam a saída da água percolada, que era conduzida por um funil até potes plásticos.



Figura 5 – Visão geral do terceiro experimento. A: coluna de lixiviação evidenciando os anéis de PVC fixados em sua parede interna. B: detalhe do sistema de irrigação por gotejamento mostrando o posicionamento do emissor na coluna. C: visão geral das colunas de lixiviação e do sistema de irrigação. D: visão geral das plantas aos 80 dias após a emergência

Foi utilizado o Latossolo Vermelho Amarelo (LVA) coletado em Nova Odessa (SP) em área de pastagem, sendo as características químicas e físicas do solo apresentadas nas Tabelas 2 e 3, respectivamente. O solo foi coletado na camada de 0 a 20 cm de profundidade e em seguida seco a sombra e peneirado (2 mm). Foram adicionados carbonato de cálcio e de magnésio aos 30 dias antes do início do experimento para elevar a saturação de bases para 70% e o teor de

magnésio para $8 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ (SILVA; RAIJ, 1996) . A adubação de base, descrita na Tabela 8 foi realizada de acordo com Rosolem, Foloni e Oliveira (2003) e Malavolta (1980). Todos os fertilizantes foram misturados ao solo, com posterior umedecimento a cerca de 20% da capacidade de campo. Em seguida, o solo foi colocado nas colunas.

Tabela 8 – Adubação de semeadura do algodão

Nutriente	Dose --- mg dm^{-3} ---	Fonte
Nitrogênio	20	NH_4SO_4
Fósforo	165	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$
Potássio	120	KCl
Magnésio	5	$\text{MgCl} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
Cálcio	84	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$
Boro	2	H_3BO_3
Manganês	2	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$
Zinco	6	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
Cobre	1,5	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Foram deixados 5 cm entre o nível do solo e a superfície da coluna. Cada coluna recebeu exatamente 12 kg de solo. O tampão de PVC, na extremidade inferior da coluna, recebeu uma camada fina de areia por cima de uma camada de manta de drenagem para cobrir os orifícios de saída de água e evitar entupimento. As colunas foram então mantidas em repouso por cerca de 2 semanas recebendo irrigações periódicas para manter o solo úmido e favorecer a eliminação do excesso de nitrogênio mineralizado. Durante o período de repouso aplicaram-se no total 2,5 litros de água por coluna.

A semeadura foi realizada em 16/10/2011, colocando-se 10 sementes por coluna. Após a emergência (20/10/2011), as plântulas em excesso foram eliminadas deixando-se apenas duas plântulas por coluna.

As colunas foram irrigadas semanalmente com volume suficiente para provocar lixiviação e atender a exigência hídrica das plantas. A água deionizada foi aplicada com sistema de gotejamento. Cada coluna recebeu um gotejador com

vazão de 2 litros por hora, posicionado rente ao solo e no centro na coluna (Figuras 5B e 5C). O sistema de gotejamento era verificado periodicamente para garantir vazão homogênea em todos os gotejadores. Ao todo, durante o ciclo do algodoeiro, cada coluna recebeu 22.300 mL de água. A irrigação era feita ao menos uma vez por semana aplicando-se volume suficiente para causar lixiviação. Nos dias mais quentes, volume menor de água era aplicado nas colunas apenas para suprir a necessidade de água da planta, sem que ocorresse lixiviação. O extrato lixiviado era coletado no dia posterior a irrigação, o volume era medido e em seguida adicionava-se ácido sulfúrico (1% v/v) para sua conservação. O extrato era armazenado em garrafas plásticas mantidas em câmara fria até o momento da análise.

Foram aplicadas três doses de N em cobertura, equivalentes a 50, 100 e 150 kg ha⁻¹ na forma de ureia, com e sem o inibidor de nitrificação DMPP (Tabela 9). A dose de DMPP utilizada foi de 1,0% em massa com base no teor de N amoniacal, para o SNA, ou amídico, para ureia (ZERULLA et al., 2001). Foi utilizada ureia enriquecida com o isótopo de ¹⁵N, a 5% de átomos em excesso. Cada combinação de fonte e dose constituiu em um tratamento, para o qual foram utilizadas quatro repetições.

Tabela 9 – Descrição dos tratamentos

Fertilizante	Dose de N (kg ha⁻¹)
Controle	0
Ureia	50
Ureia	100
Ureia	150
Ureia+DMPP	50
Ureia+DMPP	100
Ureia+DMPP	150

A aplicação de N em cobertura foi parcelada em duas vezes, sendo um terço da dose fornecida cerca de 20 dias após a emergência, e dois terços aplicados cerca de 40 dias após a emergência. O fertilizante foi dissolvido em água e aplicado na superfície do solo com auxílio de macropipeta.

3.3.2 Determinações analíticas

Aos 90 dias após a emergência, as plantas foram coletadas, separadas em parte aérea, raiz e “maçãs” (capúleos) e lavadas em água deionizada. Posteriormente, foram colocadas para secar em estufa de circulação forçada de ar, a 60°C por cerca de 90 horas. Ao final do cultivo, o solo foi retirado das colunas, pesado e homogeneizado vigorosamente. Uma amostra de solo foi tomada de cada coluna (unidade experimental) e levada a estufa para secagem a 60°C e posterior determinação da massa de matéria seca. Posteriormente, as amostras de solo e planta foram finamente moídas para subsequente determinação dos teores de N-total e abundância de ¹⁵N em analisador elementar acoplado a espectrômetro de massas (*ICP-IRMS*) no Laboratório de Isótopos Estáveis do CENA/USP, segundo metodologia proposta por Barrie e Prosser et al. (1996).

A porcentagem de N nas plantas ou no solo proveniente do fertilizante marcado (*N_{pfm}*) foi calculada pela equação 1.

$$N_{pfm} = \frac{a}{b} \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

Em que: “*a*” representa a porcentagem de átomos de ¹⁵N em excesso na planta ou no solo; “*b*” representa a porcentagem de átomos de ¹⁵N em excesso no fertilizante (TRIVELIN et al., 1994).

A recuperação percentual de ¹⁵N (*RP¹⁵N*) na planta foi calculada em relação ao N aplicado, através da equação 2.

$$RP^{15}N = \frac{N_{pfm} \times N_{planta}}{N_{fertilizante}} \times 100 \quad \dots\dots\dots(2)$$

Em que: “*N_{planta}*” representa a quantidade total de N na planta e “*N_{fertilizante}*” a quantidade de N aplicada através do fertilizante (TRIVELIN et al., 1994).

Uma alíquota do solo seco foi utilizada para extração de nitrogênio mineral em solução de cloreto de potássio 1 mol L^{-1} (5:1). A mistura foi agitada por 30 minutos em agitador de bancada a 200 rpm, após decantação filtrada em papel Whatmann 4 e armazenada em freezer até ocasião da análise. A análise de nitrogênio nítrico foi realizada de acordo com Gine et al. (1980), e a de nitrogênio amoniacal de acordo com Krug, Hansen e Ruzicka et al. (1979), ambas em sistema de injeção em fluxo (FIA) do Laboratório de Ecologia Isotópica do CENA/USP.

3.3.3 Análise dos dados

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os tratamentos formaram um arranjo com dois fatores (fonte e doses de N, conforme a Tabela 9). Os dados foram analisados por análise de variância. Quando o teste F foi significativo, procedeu-se a comparação de médias entre tratamentos pelo teste da diferença mínima significativa. Para verificar o efeito das doses foram ajustadas regressões lineares ou quadráticas. As análises estatísticas foram feitas com o R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011), utilizando o pacote estatístico *Agricolae* (MENDIBURU, 2012).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento 1 – Avaliação do DMPP aplicado em ureia e sulfonitrato de amônio na inibição da nitrificação em três solos diferentes

4.1.1 Variação dos valores de pH do solo durante a incubação

A nitrificação é um processo acidificante (ZHAO; XING, 2009), assim a adição de fertilizantes amoniacais ou amídicos no solo promove a redução do seu pH ao longo do tempo, o que foi observado no experimento de incubação. Todos os tratamentos que receberam o fertilizante nitrogenado apresentaram redução nos valores de pH ao longo do período de incubação (Figura 6). Com exceção do tratamento ureia mais o inibidor de nitrificação fosfato de 3,4-dimetilpirazol (UR+DMPP) no solo NQ, todos os tratamentos nos três solos apresentaram valor de pH inferior ao controle, após 60 dias incubação.

Após a aplicação da ureia no solo, geralmente observa-se aumento nos valores de pH devido ao processo de hidrólise da molécula (o NH_3 liberado captura H^+ formando NH_4^+). A hidrólise da ureia é um processo rápido na maioria dos solos em condições tropicais, completando-se de 3 a 5 dias (TRENKEL, 2010). Porém, o aumento de pH não foi observado após a adição da ureia sem DMPP nos três solos. Pelo contrário, verificou-se queda no pH durante a incubação com a ureia. A queda nos valores de pH após 15 dias de incubação com ureia foi de 1,22 no NQ; 1,51 no LVA e 0,62 pontos no LV. A disponibilidade de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ e pH elevado estimularam a nitrificação que ocorreu rapidamente após aplicação da ureia causando redução do pH do solo. Quando o DMPP foi adicionado a ureia, a nitrificação foi mais lenta o que permitiu a elevação do pH até os 7 dias, sendo essa elevação muito mais intensa nos solos NQ (1,87) e LVA (0,97). Após os 7 dias, os valores de pH caíram lentamente no NQ e permaneceram maiores em relação ao controle até os 50 dias. No LVA a queda foi mais rápida e aos 30 dias o valor era menor que aquele observado no tratamento controle. No LV as variações nos valores de pH foram menores e, aos 15 dias, nos tratamentos com UR e UR+DMPP já era menor do que o controle.

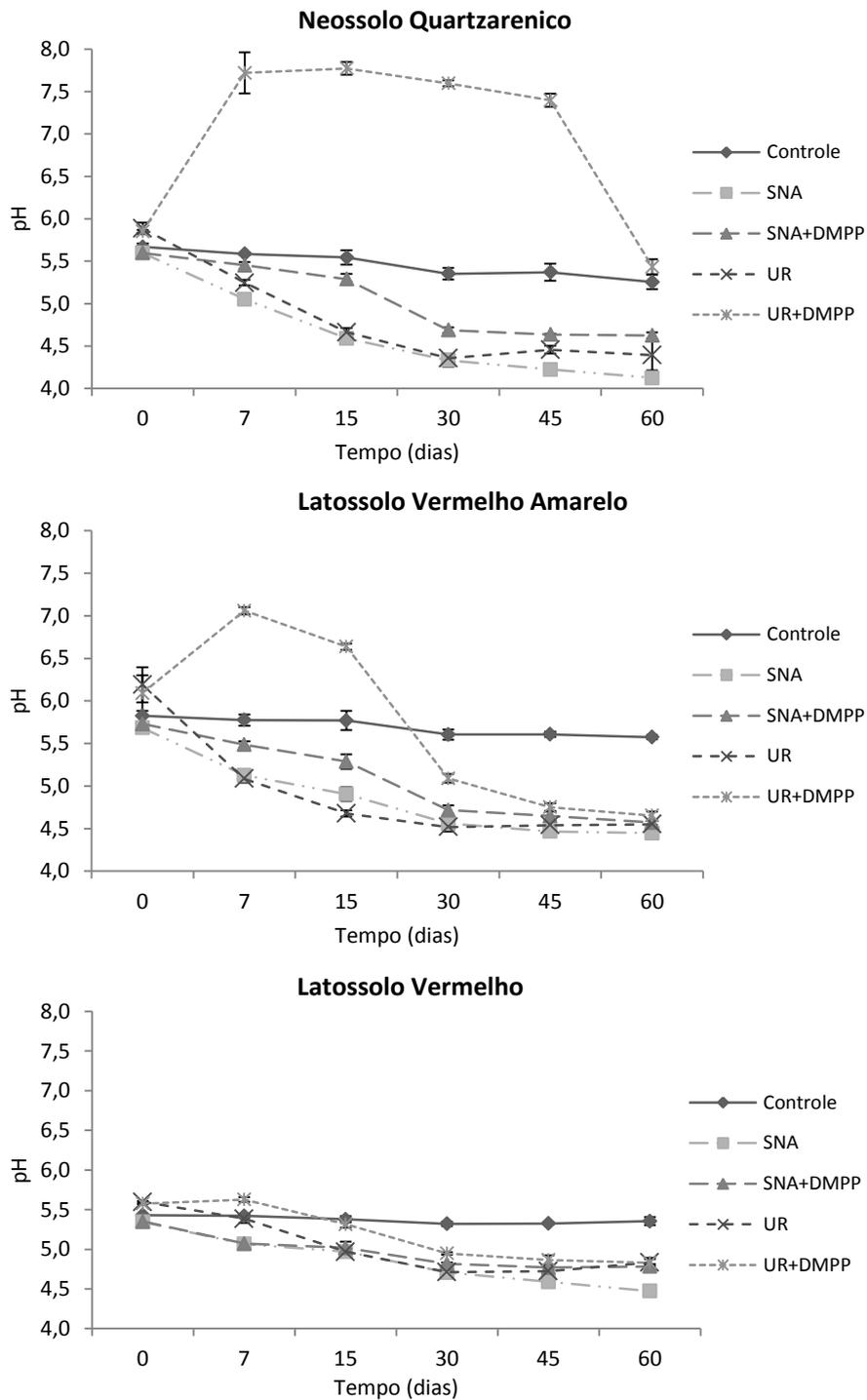


Figura 6 - Valores de pH em três solos incubados por diferentes períodos com os fertilizantes ureia (UR) e sulfonitrato de amônio (SNA), com e sem inibidor de nitrificação (DMPP). As barras verticais representam os desvios padrões das médias

Na incubação com SNA as variações de pH foram bem menores do que aquelas observadas com ureia. Por não ter o efeito alcalinizante da ureia e por parte do N já estar na forma nítrica, o potencial de nitrificação do SNA foi menor, refletindo em pequenas variações na reação do solo (valores de pH).

No solo NQ, notou-se redução mais lenta no valor de pH para o tratamento com a adição de SNA+DMPP em relação ao tratamento com SNA até os 15 dias. Verificou-se também que, após os 15 dias a diferença passa a ser menor (cerca de 0,3). O valor de pH no tratamento SNA+DMPP foi superior ao do tratamento SNA durante toda a incubação evidenciando processo de nitrificação mais lento.

No solo LVA, observou-se maior valor de pH no tratamento com a adição de SNA+DMPP somente até os 15 dias. Após esse período, os valores de pH nos dois tratamentos se igualaram.

No solo LV praticamente não se observou diferenças para os valores de pH, quando se utilizou SNA ou SNA+DMPP.

4.1.2 Dinâmica do nitrogênio mineral ao longo da incubação

4.1.2.1 Neossolo Quartzarênico

Na Figura 7 pode-se observar os resultados das análises de N nítrico e amoniacal no solo nos diferentes períodos de incubação do solo NQ. Observa-se redução do N mineral (nítrico + amoniacal) no solo, após os 7 dias, de cerca de 20 mg kg⁻¹. Dos 15 aos 45 dias a quantidade de N mineral permaneceu constante, por volta de 40 mg kg⁻¹, reduzindo novamente aos 60 dias para cerca de 30 mg kg⁻¹. Provavelmente, tais reduções do N mineral se devam a imobilização de N pela microbiota do solo, visto que o NQ apresentava alta relação C/N (ao redor de 90:1), o que está de acordo com o relato de Cabezas e Couto (2007), os quais descreveram que a imobilização do N ocorreu quando a relação C/N excedeu valores de 20 a 25:1.

Nos tratamentos que receberam ureia, o N mineral foi igual ao controle no início da incubação. Aos 7 dias a ureia já havia sido hidrolisada e a concentração do N mineral no solo NQ dos tratamentos com o fertilizante estava em torno de 52 mg kg⁻¹ para UR e 40 mg kg⁻¹ para UR+DMPP. Ao longo do período de incubação verificou-se redução do teor do N mineral no solo desses tratamentos, sendo mais intensa quando se aplicou UR+DMPP. Provavelmente, essa redução também se deve em parte pela imobilização promovida pela microbiota do solo. Porém, diferentemente dos tratamentos com SNA, a perda de NH₃ por volatilização pode ter sido significativa, principalmente no tratamento UR+DMPP, no qual a maior permanência do N na forma amoniacal combinada ao mais elevado valor de pH do solo (entre 7 e 8 unidades) devem ter favorecido a volatilização. Aos 15 dias, a concentração de N-mineral no solo que recebeu a aplicação de UR+DMPP se igualou aquela do tratamento controle (Figura 7).

O teor de amônio no solo foi significativamente maior quando se aplicou SNA+DMPP em relação à SNA dos 30 aos 60 dias de incubação. Aos 45 dias, os teores de amônio no solo nos dois tratamentos já estavam muito baixos, de 2,8 a 1,4 mg kg⁻¹. Somente aos 30 dias de incubação foi verificada concentração de nitrato significativamente maior no tratamento com SNA comparando com a aplicação de SNA+DMPP. Para os outros períodos de avaliação não foi verificada diferença significativa. Na Figura 8, observou-se a porcentagem de N mineral na forma amoniacal maior em relação à forma nítrica até por volta dos 15 dias com o fornecimento de SNA, e até os 30 dias para o tratamento com SNA+DMPP. Porém, dos 45 dias em diante, o nitrato já representava quase 100% do N mineral no solo em ambos os tratamentos, indicando que a nitrificação ou imobilização do N-NH₄⁺ aplicado já estava praticamente completa.

No tratamento que recebeu ureia, o DMPP foi mais eficiente em manter o teor de amônio elevado. Desde os 7 dias até o final do período de incubação, o tratamento com UR+DMPP apresentou teor de amônio significativamente superior ao teor observado no tratamento com a aplicação de UR. As diferenças nos teores de amônio entre UR e UR+DMPP (132% em média) foram bem maiores do que as observadas entre SNA e SNA+DMPP (20% em média). O teor de nitrato no tratamento UR+DMPP foi significativamente menor em relação ao tratamento UR, dos 7 aos 30 dias de incubação. Entre os 45 e 60 dias, o tratamento com inibidor

também apresentou menor teor de nitrato, porém, a diferença não foi significativa. Dos 15 aos 30 dias, o teor de nitrato para o tratamento com a aplicação de UR+DMPP chegou a ser menor em relação ao tratamento controle.

Na Figura 8, pode-se observar que a maior parte do N-mineral estava na forma amoniacal até por volta dos 40 dias quando se utilizou ureia com DMPP. Sem o inibidor, a porcentagem de N-amoniacal não chegou a superar a porcentagem de N-nítrico em nenhum momento, evidenciando a rápida nitrificação do N da ureia. Por volta dos 60 dias, mais de 10% do N mineral ainda estavam na forma amoniacal quando se aplicou UR+DMPP, enquanto que para o tratamento com UR o N-amoniacal era praticamente zero, aos 30 dias de avaliação.

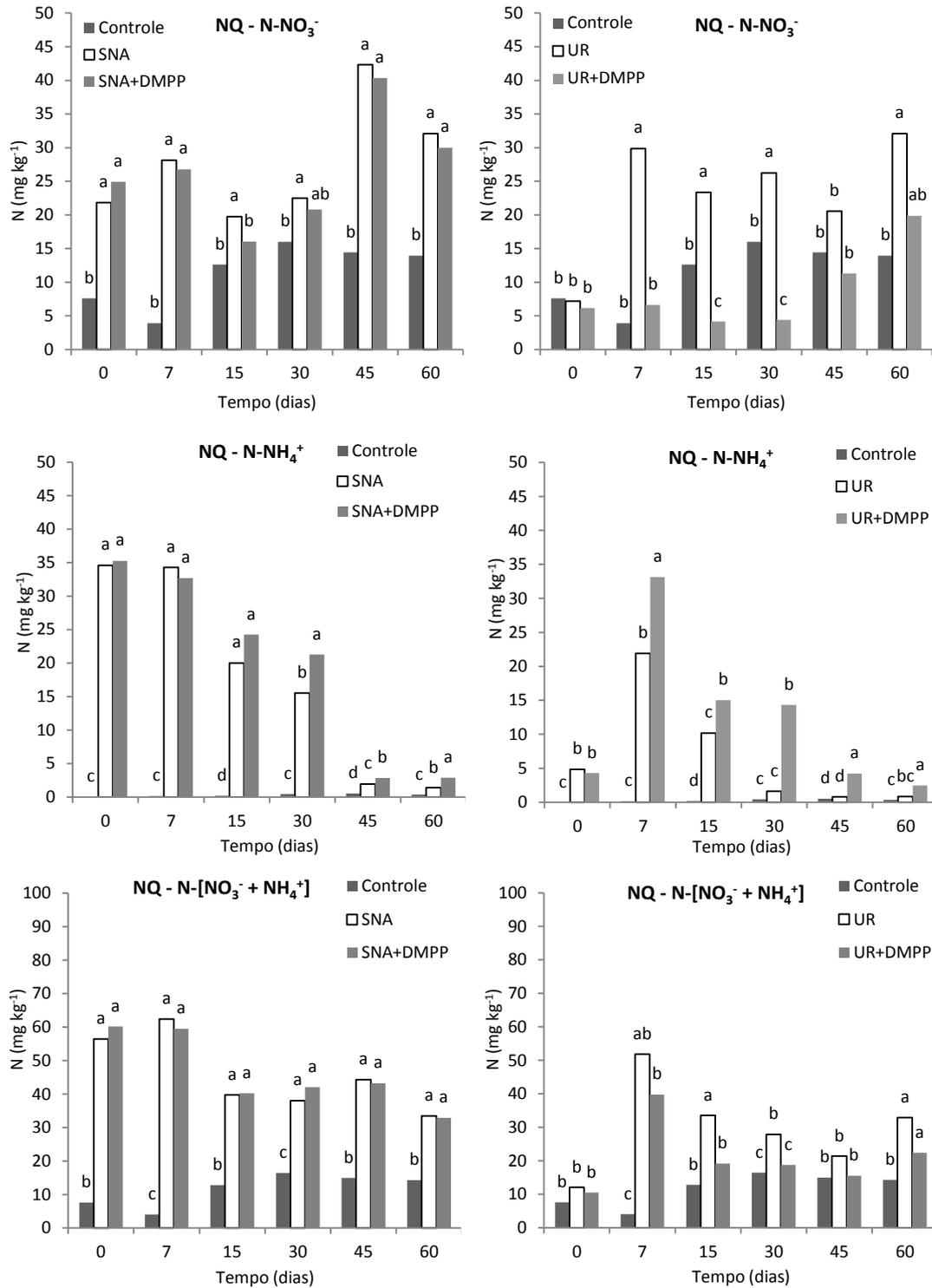


Figura 7 – Concentração de N-NO_3^- e N-NH_4^+ em amostras de um Neossolo Quartzarênico incubadas com ureia (UR) e sulfonitrato de amônio (SNA), com e sem inibidor de nitrificação (DMPP) por diferentes períodos. Letras iguais representam médias que não diferem significativamente dentro de cada período pelo teste da diferença mínima significativa ($p < 0,05$)

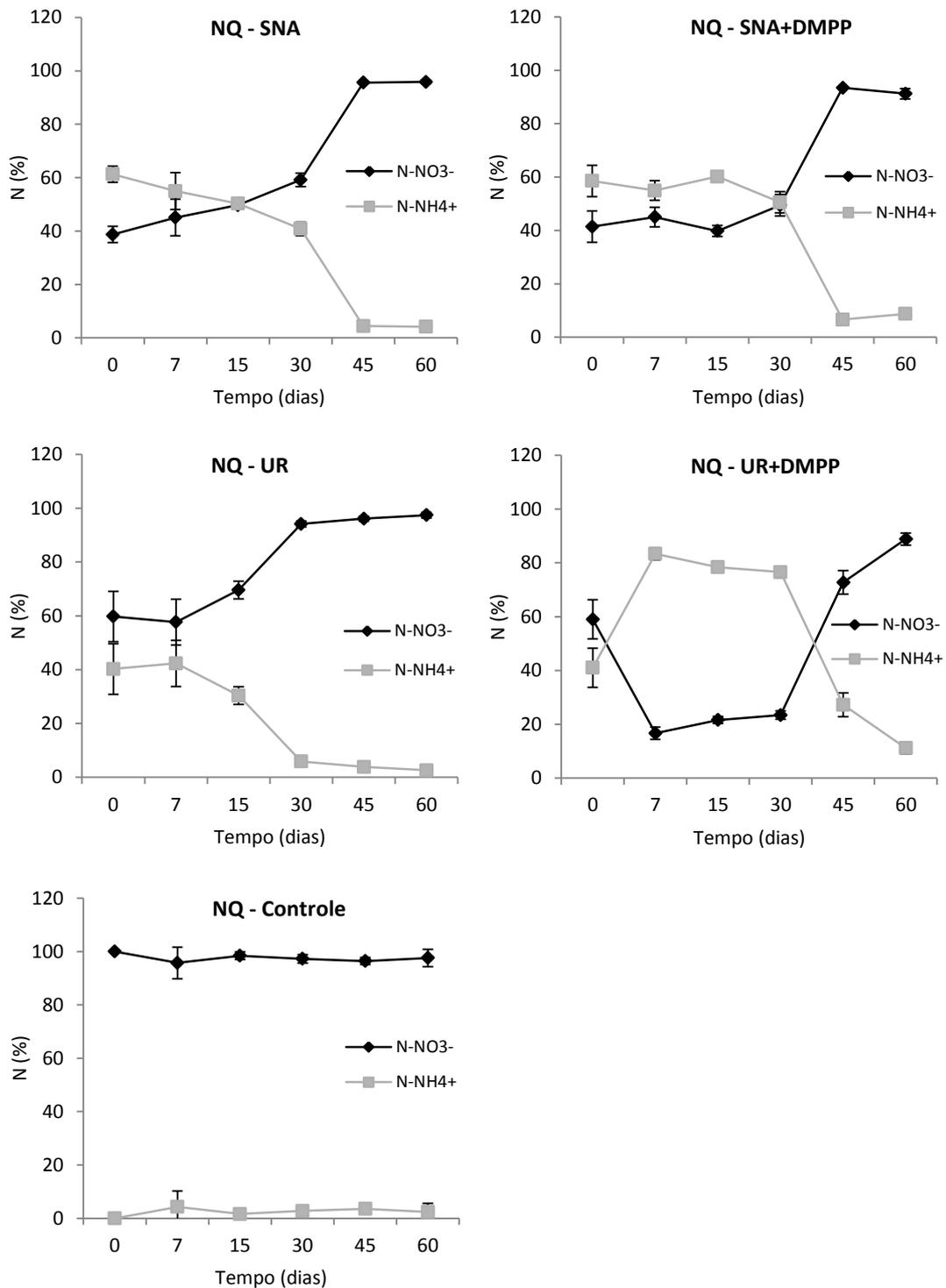


Figura 8 – Porcentagem do N mineral nas formas nítrica e amoniacal em amostras de um Neossolo Quartzarênico incubadas com ureia (UR) e sulfonitrato de amônio (SNA), com e sem inibidor de nitrificação (DMPP) por diferentes períodos. Linhas verticais representam o desvio padrão da média

4.1.2.2 Latossolo Vermelho Amarelo

Os resultados das análises de nitrogênio nos diferentes períodos de incubação do LVA estão apresentados na Figura 9. As variações dos teores de N mineral observadas ao longo do período de incubação foram menores do que as observadas no solo NQ. Como a relação C/N do LVA não foi tão alta a imobilização deve ter sido bem menor que aquela observada no solo NQ. As pequenas diferenças no teor de N mineral entre os períodos de incubação podem estar ligadas a imprecisão nas análises de nitrogênio ou a perdas de N por desnitrificação. Nos tratamentos com SNA, o N mineral é relativamente constante desde o tempo zero de incubação, enquanto nos tratamentos com ureia os valores aumentaram entre 0 e 7 dias devido a hidrólise da ureia. Nota-se que o N mineral foi menor nos tratamentos com DMPP para as duas fontes de N. Possíveis explicações seriam a maior volatilização de amônia devido à maior concentração de N-NH_4^+ no solo, e a imobilização preferencial de amônio pelos microrganismos do solo. Alguns trabalhos demonstraram que os microrganismos do solo apresentam marcante preferência pelo amônio ao invés de nitrato (WINSOR; POLLARD, 1956; RECOUS; MARY, 1990; FITZHUGH; LOVETT; VENTEREA, 2003). Recous e Mary (1990), por exemplo, observaram imobilização preferencial de amônio aplicado nas formas de ureia, sulfato de amônio e nitrato de amônio em solos agrícolas e também em culturas puras de bactérias isoladas do solo. Segundo esses autores, quando o amônio e o nitrato estão disponíveis no solo, no mesmo lugar ao mesmo tempo, ocorre primeiro a imobilização do amônio e depois a do nitrato, pois a absorção de amônio inibiria a absorção do nitrato (RICE; TIEDJE, 1989). Rochester, Constable e MacLeod (1992) concluíram que em solos alcalinos e neutros, ocorre imobilização preferencial de nitrato e em solos ácidos, como os solos estudados nesse trabalho, ocorre imobilização preferencial de amônio.

Apenas aos sete dias de incubação o teor de amônio no solo foi maior no tratamento com SNA+DMPP em comparação a aquela com SNA. Para os demais períodos de avaliação não foi observada diferença significativa. O teor de nitrato foi significativamente maior no tratamento com SNA em relação aquele com SNA+DMPP, dos 15 aos 45 dias de incubação. Por outro lado, não foi constatada

diferença para o início e final da incubação. Esperava-se que o menor teor de nitrato com o suprimento de N na forma de SNA+DMPP fosse acompanhado de maior teor de amônio no mesmo período. Tal fato pode não ter ocorrido possivelmente pela imobilização preferencial de amônio ou perda de N por volatilização.

Observa-se na Figura 10 que o valor em porcentagem de N-mineral na forma nítrica superou a porcentagem na forma amoniacal, por volta dos 7 dias, no tratamento com SNA; e por volta dos 30 dias com a aplicação de SNA+DMPP. Em ambos os tratamentos, a porcentagem de N-mineral na forma amoniacal apresentou redução significativa aos 45 dias.

No tratamento UR+DMPP o teor de amônio no solo foi significativamente superior dos 7 aos 30 dias, sendo que dos 45 aos 60 dias o teor de amônio foi reduzido tanto em UR quanto em UR+DMPP. O teor de nitrato foi superior em UR também dos 7 aos 30 dias. Já a porcentagem de N-mineral na forma nítrica somente superou a porcentagem na forma amoniacal por volta dos 20 dias em UR+DMPP, enquanto em UR aos 7 dias, a maior parte do N-mineral já estava na forma de nitrato. Aos 30 dias quase todo o N já passou para a forma nítrica em UR, enquanto com o inibidor o mesmo só ocorreu por volta dos 45 dias.

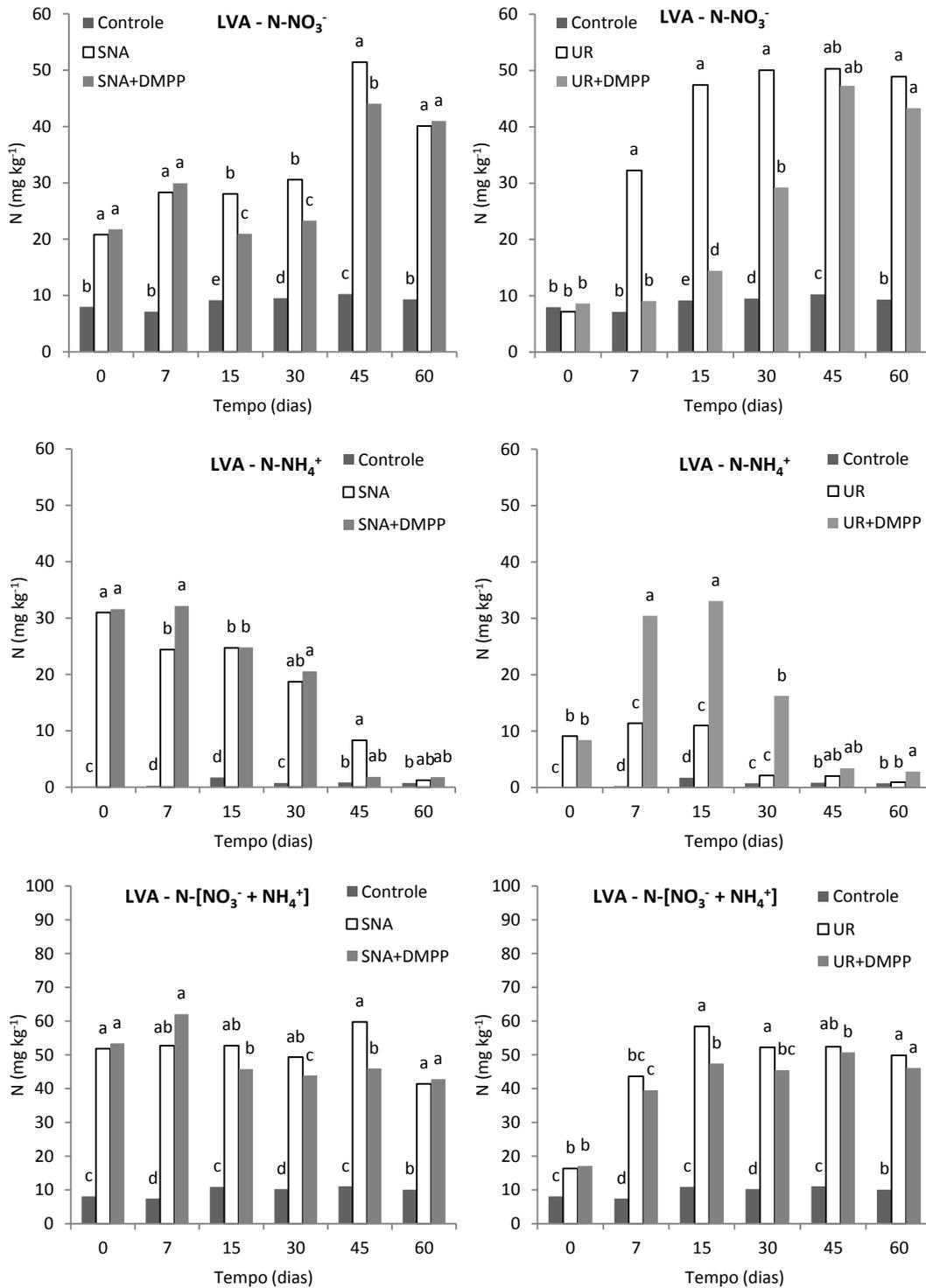


Figura 9 – Concentração de N-NO₃⁻ e N-NH₄⁺ em amostras de um Latossolo Vermelho Amarelo incubadas com ureia (UR) e sulfonitrato de amônio (SNA), com e sem inibidor de nitrificação (DMPP) por diferentes períodos. Letras iguais representam médias que não diferem significativamente pelo teste da diferença mínima significativa ($p < 0,05$)

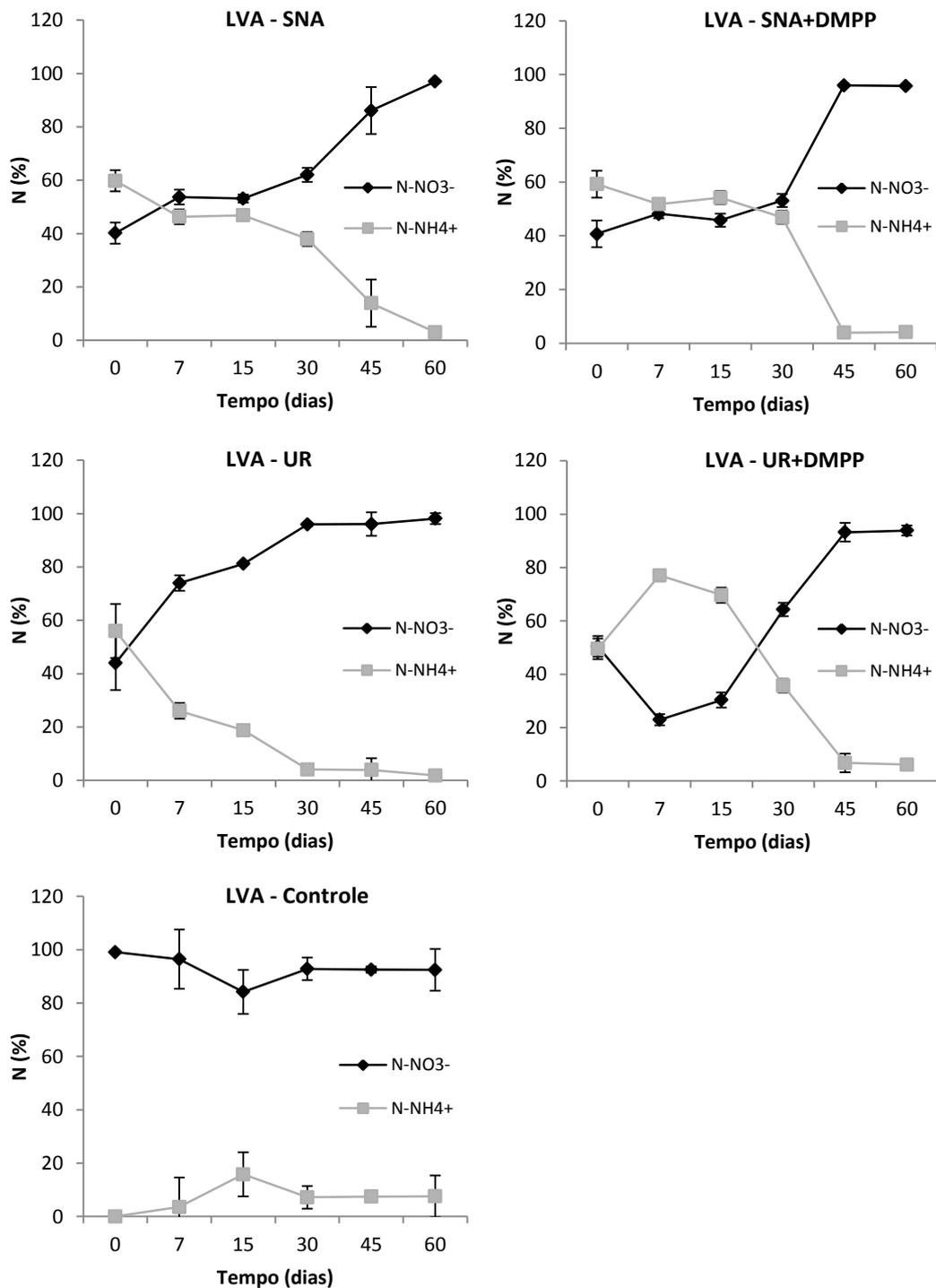


Figura 10 – Porcentagem de N-mineral nas formas nítrica e amoniacal em amostras de um Latossolo Vermelho Amarelo incubadas com ureia (UR) e sulfonitrato de amônio (SNA), com e sem inibidor de nitrificação (DMPP) por diferentes períodos. Linhas verticais representam o desvio padrão da média

4.1.2.3 Latossolo Vermelho

Os resultados das análises das concentrações de N-mineral em função dos períodos de incubação do LV estão apresentados na Figura 11. O teor de N-mineral no tratamento com SNA aumentou após os 15 dias, evidenciando maior mineralização do que imobilização, o que pode ser explicado pela baixa relação C/N desse solo (C/N = 6). Porém, o mesmo não ocorreu no tratamento com SNA+DMPP, no qual a concentração de N-mineral permaneceu relativamente constante durante toda a incubação. O teor de N-mineral do tratamento SNA+DMPP foi significativamente menor que aquele do tratamento com SNA, após os 15 dias incubação. Entre UR e UR+DMPP não foram verificadas diferenças para os valores de N-mineral em nenhum momento do período de incubação. Como também observado nos outros solos, o teor de N-mineral dos tratamentos com ureia aumentou de 0 a 7 dias de incubação e depois permaneceu relativamente constante. Nesse solo, parece não ter ocorrido maior perda de N por volatilização quando o inibidor foi adicionado à ureia. Os valores de pH observados durante a incubação não justificam as perdas de N por volatilização. Assim, a imobilização preferencial de amônio pôde novamente ter favorecido os menores níveis de N-mineral quando se usou o DMPP no SNA.

Poder-se-ia supor, entretanto, que devido à relação C/N mais baixa desse solo não ocorresse imobilização do N. Todavia, os processos de imobilização e mineralização podem ter ocorrido no solo durante todo o período avaliado, e provavelmente outros fatores contribuíram para definir o processo predominante, não só a relação C/N. Bengtsson, Bengtson e Mansson (2003), trabalhando com solos de floresta, demonstraram que as taxas de mineralização e imobilização bruta para os solos estudados variaram mais em função da taxa de respiração e do conteúdo de ATP do solo, do que da própria relação C/N. Segundo revisão realizada por esses autores a mineralização/imobilização de N no solo depende de vários outros fatores além da relação C/N como, conteúdo de N, lignina, N solúvel, celulose, fração leve da matéria orgânica, respiração e biomassa microbiana, entre outros. Portanto, não podemos concluir sobre a capacidade do solo de imobilizar ou mineralizar N somente pela relação C/N.

O teor de nitrato foi maior no tratamento com aplicação de SNA dos 15 dias até o final da incubação. O teor de amônio, porém, não diferiu entre SNA e SNA+DMPP em nenhum momento da incubação, sendo mais uma evidência de que pode ter ocorrido imobilização preferencial do amônio quando foi aplicado SNA+DMPP.

Na Figura 12, verifica-se que a porcentagem de N-mineral na forma de amoniacal não chegou a superar a porcentagem na forma nítrica em nenhum momento da incubação, o que é válido tanto para o tratamento com SNA quanto naquele com SNA+DMPP. Todo o N-mineral estava na forma nítrica aos 45 dias, em ambos os tratamentos.

O teor de amônio foi superior no tratamento com UR+DMPP em relação aquele com UR, somente dos 15 aos 30 dias. O teor de nitrato foi maior na ausência do inibidor dos 15 aos 45 dias, com valores menores do que aqueles observados para os tratamentos SNA e SNA+DMPP. Na Figura 12, observa-se que a porcentagem de N-mineral na forma amoniacal permaneceu sempre menor que a porcentagem na forma nítrica, tanto no tratamento UR quanto em UR+DMPP. No tratamento UR todo N-mineral estava na forma de nitrato aos 30 dias, o mesmo sendo verificado aos 45 dias quando se usou o inibidor.

No tratamento controle o teor de N-mineral ficou abaixo de 10 mg kg^{-1} nos solos LVA e NQ e abaixo de 20 mg kg^{-1} no LV, sendo que permaneceu predominantemente na forma de nitrato durante todo o período de incubação. O potencial de nitrificação no LV parece ser o maior que no LVA e no NQ, visto que em nenhum período analisado esse solo chegou a apresentar maiores valores de concentração de amônio em relação aos de nitrato em nenhum dos tratamentos.

De maneira geral, a nitrificação pareceu ser mais rápida para ureia do que para SNA. Quando o inibidor não foi usado o N aplicado foi quase totalmente convertido a nitrato de 45 a 60 dias para o SNA e de 30 a 45 dias para a ureia. A variação no valor de pH foi menor durante a incubação com SNA do que com ureia. Pela análise da dinâmica do N-mineral ao longo da incubação observou-se menor velocidade de transformação do amônio em nitrato nos tratamentos com SNA, confirmando o menor potencial de nitrificação do N-amoniacal fornecido através dessa fonte. Barth (2009) também observou menor potencial de nitrificação após

aplicação de SNA em relação à ureia em solos do Brasil e da Alemanha. Conforme apresentado na revisão de literatura vários estudos demonstraram porque a nitrificação do amônio formado a partir da hidrólise da ureia é mais rápida. É importante considerar as diferenças na nitrificação do N a partir das fontes utilizadas para entender o funcionamento do inibidor. Quanto mais a fonte favorecer a nitrificação maior será a possibilidade de se observar efeito positivo do inibidor.

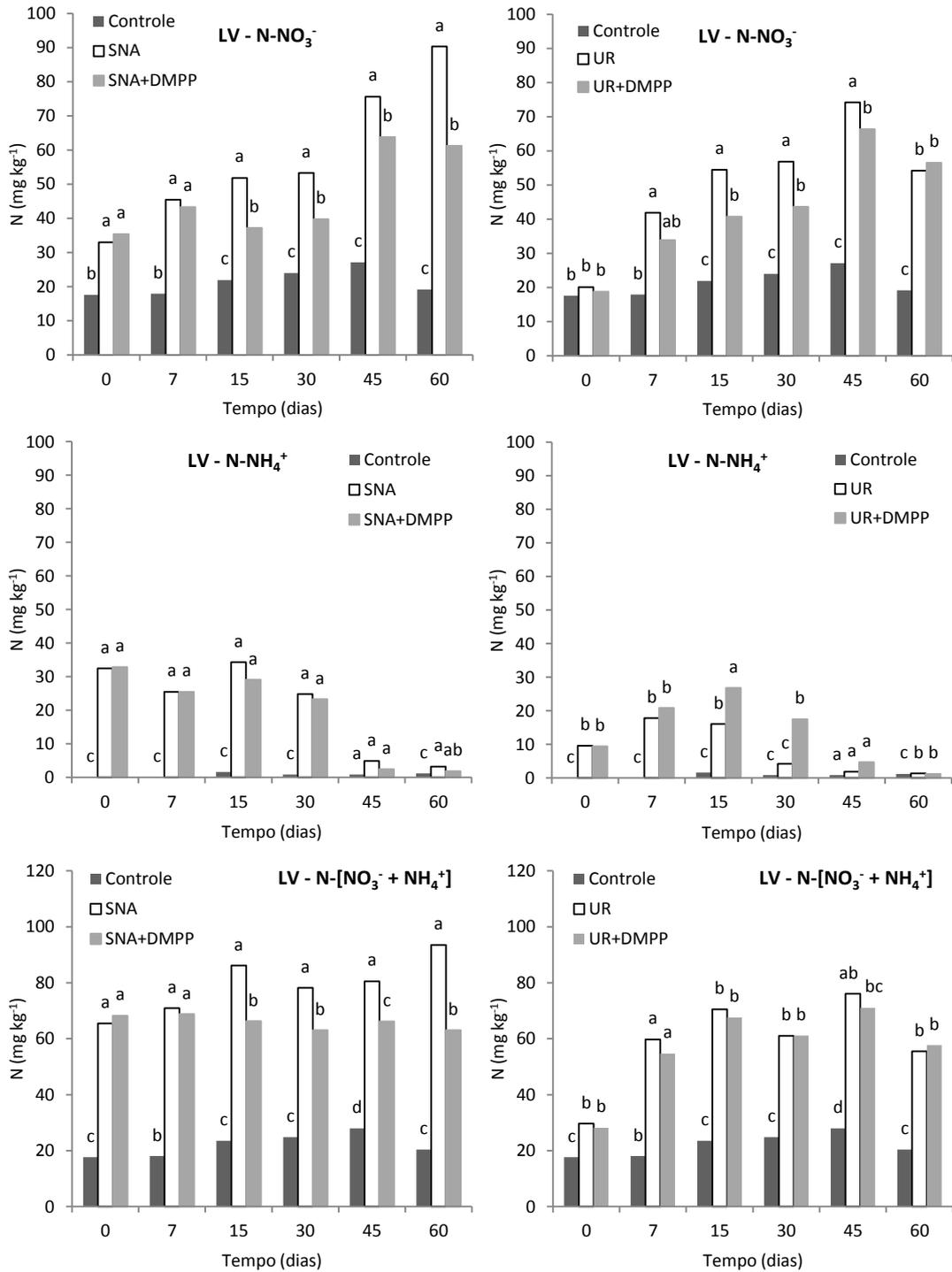


Figura 11 – Concentração de N-NO₃⁻ e N-NH₄⁺ em amostras de um Latossolo Vermelho incubadas com ureia (UR) e sulfonitrato de amônio (SNA), com e sem inibidor de nitrificação (DMPP) por diferentes períodos. Letras iguais representam médias que não diferem significativamente pelo teste da diferença mínima significativa ($p < 0,05$)

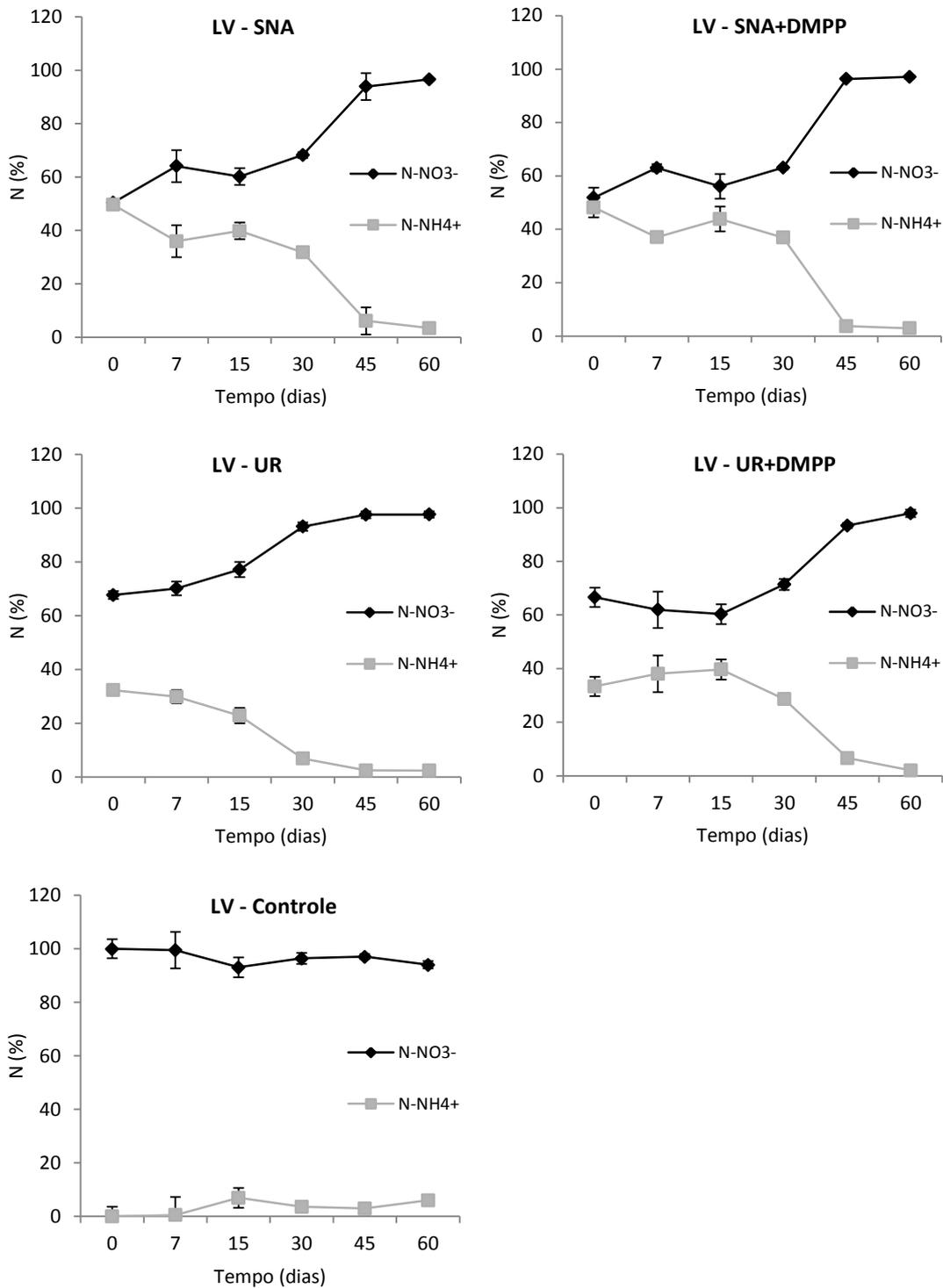


Figura 12 – Porcentagem de N nas formas nítrica e amoniacal em amostras de um Latossolo Vermelho incubadas com ureia (UR) e sulfonitrato de amônio (SNA), com e sem inibidor de nitrificação (DMPP) por diferentes períodos. Linhas verticais representam o desvio padrão da média

4.1.3 Inibição da nitrificação pelo DMPP

Na Tabela 10 observa-se que a inibição média da nitrificação ao longo do período de incubação foi de 140% para o tratamento com UR+DMPP e 20% para SNA+DMPP, no solo NQ. No tratamento SNA+DMPP a inibição foi mais expressiva até os 30 dias, depois foi reduzida e se manteve baixa até o final da incubação. Para UR+DMPP altas taxas de inibição foram mantidas até o final da incubação. Tais resultados são reflexo do maior potencial de nitrificação do $N-NH_4^+$ proveniente da ureia, fazendo com que a ação do inibidor seja mais visível. Como se trata de um solo arenoso e com baixa matéria orgânica, a degradação do DMPP foi mais lenta e sua adsorção baixa, favorecendo a ocorrência de altos níveis do inibidor na solução do solo por mais tempo. Segundo Barth (2001) o conteúdo de argila e de matéria orgânica se correlacionam negativamente com a eficiência do inibidor.

Tabela 10 – Porcentagem de inibição da nitrificação em três solos incubados com ureia (UR) e sulfonitrato de amônio (SNA), com o inibidor de nitrificação DMPP

Tempo (dias)	7	15	30	45	60	Média
	----- % de inibição da nitrificação -----					
<i>Neossolo Quartzarenico</i>						
SNA+DMPP	6%	52%	26%	7%	12%	20%
UR+DMPP	90%	179%	214%	151%	67%	140%
<i>Latossolo Vermelho Amarelo</i>						
SNA+DMPP	-8%	37%	34%	18%	-3%	16%
UR+DMPP	92%	86%	51%	8%	14%	50%
<i>Latossolo Vermelho</i>						
SNA+DMPP	8%	49%	46%	24%	41%	34%
UR+DMPP	34%	42%	40%	17%	-7%	25%

No solo LVA, as taxas de inibição foram menores. Níveis mais altos de inibição foram obtidos para as duas fontes de N somente até os 30 dias. A média de inibição para UR+DMPP foi de 50% e para SNA+DMPP 16%. Novamente pode-se

observar maior efeito para a ureia, porém, bem menor do que observado para o solo NQ, devido ao maior teor de matéria orgânica e argila do LVA.

Para o LV, a taxa de inibição foi maior para o tratamento com o SNA+DMPP, com taxa média de 34%, que se manteve ao longo dos 60 dias. Para UR+DMPP a taxa média de inibição foi de 25%, e o efeito mais pronunciado foi observado até os 30 dias. Verifica-se comportamento inverso a aquele observado nos outros dois solos, nos quais a inibição da nitrificação nos tratamentos com UR+DMPP foi maior. Destaca-se que, os valores observados para as duas fontes são próximos e devido à variabilidade encontrada nos resultados, não se pode afirmar que elas foram significativamente diferentes. A maior taxa de nitrificação da ureia em relação ao SNA nesse caso não ocorreu, ou foi menor devido à hidrólise da ureia não ser suficiente para causar significativo aumento nos valores de pH no solo LV. De modo geral, o valor de pH variou muito pouco no LV durante a incubação em todos os tratamentos com os fertilizantes nitrogenados. Esse solo parece apresentar maior capacidade tampão, provavelmente devido a seu alto teor de argila e matéria orgânica, capaz de compensar variações de pH causadas pela nitrificação ou hidrólise da ureia. Assim, a nitrificação de ambas as fontes foi semelhante, bem como a ação do inibidor sobre elas.

Em geral, verificou-se que o DMPP foi capaz de manter menor teor de N-nitríco nos três solos analisados quando aplicado em ambas as fontes. A nitrificação do N da ureia pareceu mais intensa comparada a do SNA nos solos LVA e NQ, o que permitiu que o inibidor apresentasse melhor desempenho para ureia nesses dois solos. No solo LV, a ação do inibidor foi semelhante entre ambas as fontes. Considerando a média das duas fontes, a inibição da nitrificação pelo DMPP aumentou seguindo a ordem $NQ > LVA > LV$, e que de acordo com relatos na literatura pode ser explicado pelas variações nos teores de argila e de matéria orgânica desses solos. Ou seja, são fatores que se correlacionam negativamente com a ação do inibidor.

4.2 Experimento 2 - Efeito do uso de inibidor de nitrificação DMPP em ureia e sulfonitrato de amônio no crescimento do algodoeiro e na lixiviação de N no solo

4.2.1 Nitrogênio mineral e pH do solo após cultivo do algodão

Na Figura 13 observa-se que o valor de pH do solo determinado em cloreto de cálcio para a camada de 0 a 15 cm foi sempre maior nos tratamentos com DMPP em comparação aos tratamentos sem DMPP. Como o amônio é relativamente pouco móvel no solo, a nitrificação foi intensa na camada superficial, onde o fertilizante foi aplicado. A nitrificação do amônio causou a acidificação mais intensa nessa camada. Nos tratamentos que receberam o DMPP a nitrificação mais lenta proporcionou menor acidificação.

O efeito do inibidor no conteúdo de N-mineral ($N-NO_3^- + N-NH_4^+$) no solo após cultivo de algodão por 60 dias variou de acordo com o tipo de solo e fonte de N utilizada (Tabela 11).

No solo NQ, o tratamento SNA+DMPP apresentou maior valor de conteúdo de amônio e menor de nitrato quando comparado ao SNA. Porém, as diferenças observadas não foram significativas. A quantidade de N-mineral também não variou significativamente entre esses dois tratamentos. Já o tratamento UR+DMPP apresentou conteúdos de $N-NH_4^+$, $N-NO_3^-$ e N-mineral significativamente maiores do que UR (Tabela 11).

No solo LVA, o uso do inibidor nas duas fontes de N resultou em maior conteúdo de $N-NH_4^+$ e N-mineral no solo, porém, o conteúdo de $N-NO_3^-$ não foi alterado significativamente em nenhuma das fontes.

No solo LV, os conteúdos de N-amoniaco foram significativamente maiores e os conteúdos de N-nítrico significativamente menores quando se usou o DMPP nas duas fontes. O N-mineral não diferiu entre nenhuma das fontes pelo uso do inibidor.

Em geral, o uso do DMPP favoreceu o maior conteúdo de amônio no solo. O conteúdo de nitrato foi menor no solo LV e não variou para o LVA, enquanto no NQ, aumentou para UR+DMPP em relação à UR, não variando entre SNA e SNA+DMPP.

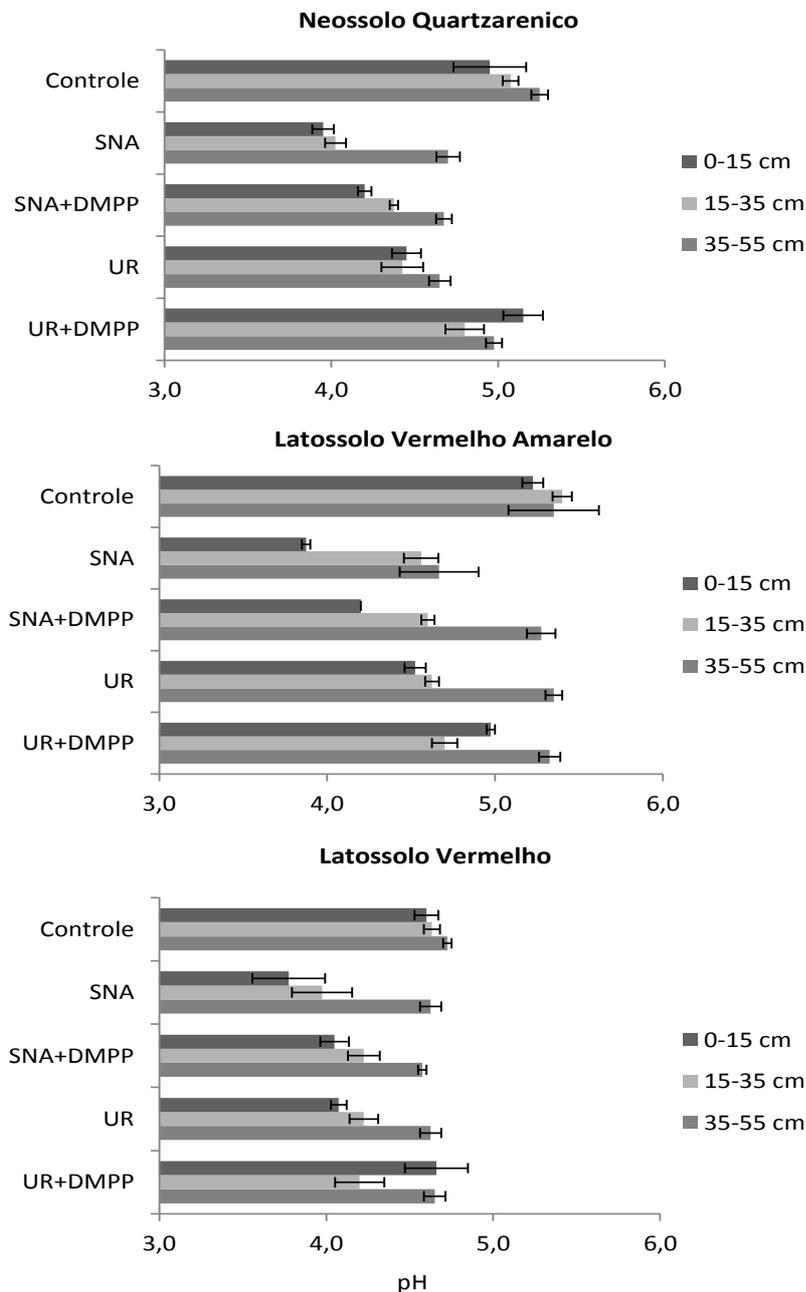


Figura 13 - Valores de pH dos solos nas camadas de 0-15, 15-35 e 35-55 cm em colunas de lixiviação cultivadas com algodoeiro, em três solos adubados com ureia (UR) e sulfonitrato de amônio (SNA), com e sem inibidor de nitrificação (DMPP). As linhas representam o erro padrão da média

Tabela 11 - Quantidade em mg de N-NH_4^+ , N-NO_3^- e $\text{N-}[\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+]$ no solo após cultivo de algodoeiro em colunas de lixiviação com os solos Neossolo Quartzarênico (NQ), Latossolo Vermelho Amarelo (LVA) e Latossolo Vermelho (LV), adubados com ureia (UR) e sulfonitrato de amônio (SNA), com e sem inibidor de nitrificação (DMPP)

Tratamento	NQ	LVA	LV
N-NH₄⁺ (mg)			
Controle	168,3 cA	195,7 bcA	106,0 dA
SNA	246,9 bcA	105,9 cC	141,2 cB
SNA+DMPP	313,7 abA	328,9 abA	319,8 bA
UR	167,4 cA	144,3 cA	166,8 cA
UR+DMPP	501,5 aA	435,6 aA	589,8 aA
N-NO₃⁻ (mg)			
Controle	71,0 cA	65,5 cA	56,5 dA
SNA	395,8 aB	874,0 aA	832,0 aA
SNA+DMPP	334,7 abC	809,7 aA	629,3 bcB
UR	237,0 bcC	426,0 bB	714,0 abA
UR+DMPP	354,1 aB	483,6 bAB	496,2 cA
N-[NH₄⁺ + NO₃⁻] (mg)			
Controle	239,3 dA	261,2 bA	162,5 bA
SNA	642,7 bB	979,9 aA	973,2 aA
SNA+DMPP	648,4 bB	1138,6 aA	949,0 aA
UR	404,4 cC	570,3 bB	880,8 aA
UR+DMPP	855,6 aB	919,2 aAB	1086,0 aA

Médias seguidas por letras diferentes, minúsculas entre tratamentos e maiúsculas entre solos, não diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

O aspecto positivo notado foi o maior conteúdo de N-amoniaco nos tratamentos com DMPP, o que mantém o N menos susceptível a lixiviação, conforme afirmam vários estudos relatados na literatura, conforme citado na revisão bibliográfica.

Foi observado que o N-mineral no solo não variou entre SNA e SNA+DMPP em nenhum dos solos estudados. Como demonstrado no experimento de incubação, o inibidor apresentou menor efeito quando usado em SNA do que quando usado em ureia em dois dos três solos estudados. Por outro lado, todos os tratamentos com UR+DMPP apresentaram mais N-mineral do que os tratamentos

com UR, sendo que a diferença só não foi significativa no solo LV. O maior efeito do DMPP na ureia ficou evidente também quando se observou as diferenças no conteúdo de amônio entre UR+DMPP e UR, que foram bem maiores do que as observadas entre SNA+DMPP e SNA.

Em geral, as quantidades de N-mineral no solo foram maiores nos tratamentos com fertilizante nitrogenado nos solos LV e no LVA em relação ao NQ. Não houve diferença significativa entre os três solos para o tratamento controle.

Os resultados da análise das concentrações de N-amoniacal e N-nítrico nas camadas do solo após o cultivo do algodão por 60 dias são apresentados na Figura 14. Observa-se maior concentração de $N-NH_4^+$ nos tratamentos que receberam DMPP com padrão de acúmulo nas camadas superficiais nos dois solos mais argilosos, LV e LVA, enquanto no solo mais arenoso, NQ, o amônio parece ter sido deslocado para camadas mais profundas, distribuindo-se de maneira mais uniforme no perfil. Segundo Wissemeier et al. (2001), devido à adsorção aos colóides do solo, o DMPP é menos móvel no solo do que o DCD e inibe a nitrificação na camada superficial, mesmo após a simulação de chuvas pesadas.

Com relação aos teores de nitrato, em geral observou-se maiores concentrações na camada mais profunda (35 a 55 cm), com exceção do tratamento UR+DMPP nos solos LV e LVA. No NQ, praticamente não foi verificada diferença no perfil de distribuição do nitrato entre SNA e SNA+DMPP. A concentração foi maior no tratamento com UR+DMPP do que em UR.

No solo LVA, os tratamentos com SNA e SNA+DMPP apresentaram concentrações de nitrato significativamente maiores nas camadas mais profundas, evidenciando a ocorrência de lixiviação. O perfil de distribuição de nitrato entre UR e UR+DMPP foi diferente. No tratamento UR a concentração de $N-NO_3^-$ na camada de 0 a 35 cm é menor do que no tratamento UR+DMPP. Provavelmente o nitrato dessa camada foi lixiviado para a camada de 35 a 55 cm.

No solo LV, o tratamento SNA+DMPP apresentou menos nitrato em relação ao tratamento com SNA na camada de 15 a 55 cm, em função da maior quantidade de N que permaneceu na forma de amônio retido na camada de 0 a 15 cm. O mesmo foi verificado para UR+DMPP.

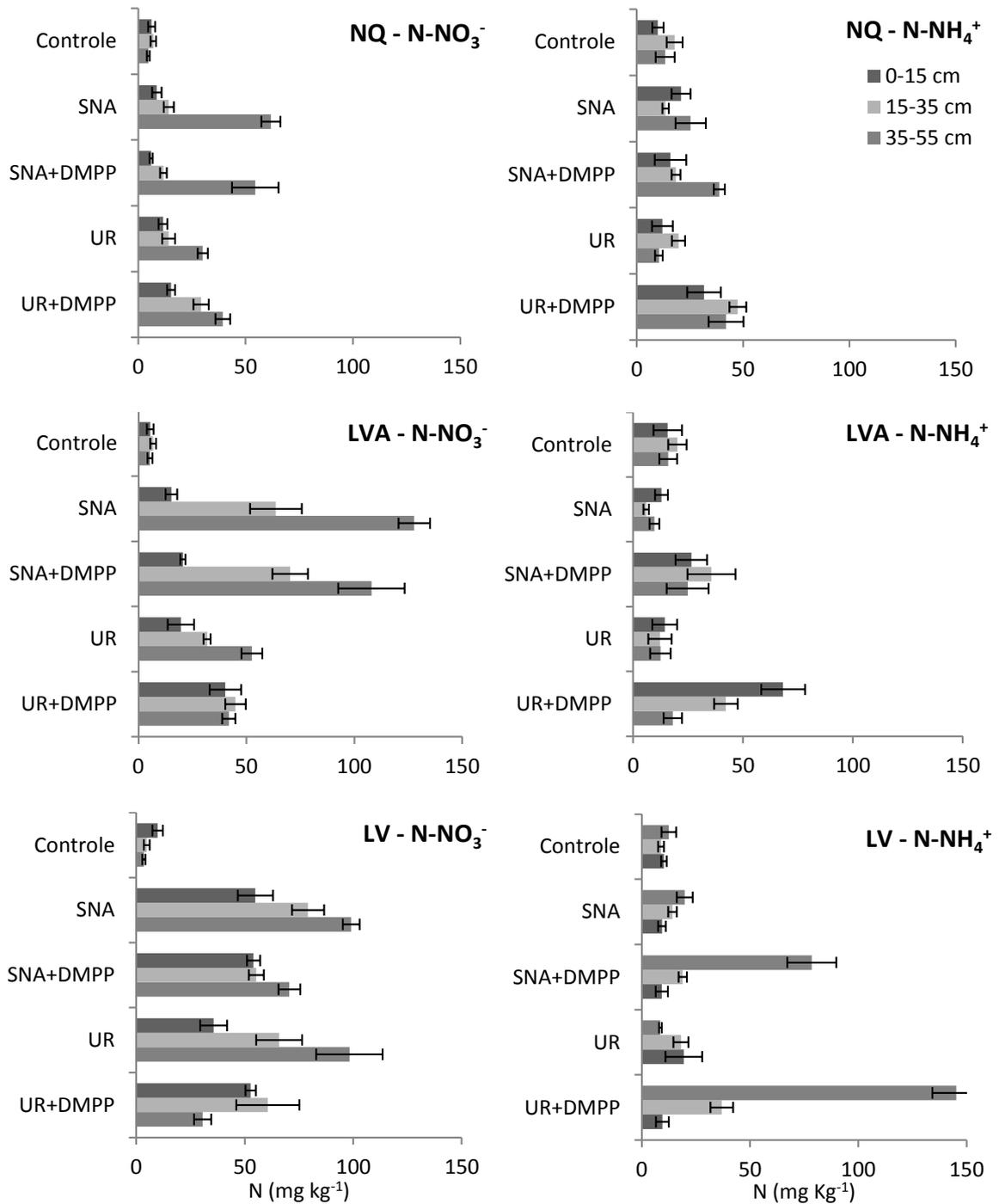


Figura 14 - Concentrações de $N-NH_4^+$ e $N-NO_3^-$ nas camadas de 0-15, 15-35 e 35-55 cm em colunas de lixiviação cultivadas com algodoeiro nos solos Neossolo Quartzarênico (NQ), Latossolo Vermelho Amarelo (LVA) e Latossolo Vermelho (LV), adubados com ureia (UR) e sulfonitrato de amônio (SNA), com e sem inibidor de nitrificação (DMPP). As linhas representam o erro padrão da média

Em geral, observa-se maior concentração de N-amoniaco nos tratamentos com DMPP. Nos solos mais argilosos esse amônio ficou retido mais próximo à superfície, pelo fato desses solos apresentarem maior CTC. No solo mais arenoso ocorreu lixiviação de N-NH_4^+ (Figura 14), que se distribuiu de forma mais uniforme no tratamento com UR+DMPP, e se acumulou na camada de 35 a 55 cm no SNA+DMPP. Em geral, o nitrato se acumulou nas camadas mais profundas. Na verdade não se pode afirmar precisamente o que ocorreu devido à dinâmica das transformações e movimentação do nitrogênio no solo ser complexa e, por sua vez, as análises efetuadas na presente pesquisa consideraram somente um período de avaliação. Parte-se do pressuposto de que no início do experimento todos os tratamentos apresentavam as mesmas concentrações de N-nítrico e N-amoniaco em cada camada do solo. O ideal seria a realização de mais análises durante o cultivo do algodão, o que é inviável quando se utiliza colunas de lixiviação, pois a coleta de amostras de solo inutilizaria a parcela. Pelos resultados apresentados, pode-se constatar que o uso do DMPP reduziu a movimentação do nitrogênio aplicado no solo, por meio da manutenção das maiores concentrações de N-amoniaco.

4.2.2 Lixiviação de nitrogênio mineral

Os resultados de lixiviação apresentaram alta variabilidade devido às várias fontes de erro inerentes ao experimento. A quantidade de N lixiviada resulta da multiplicação do volume de água drenado pela concentração de N na solução drenada. Mesmo tomando-se todos os cuidados na montagem das colunas, algumas diferenças de drenagem entre as colunas ainda podem ocorrer devido ao escoamento preferencial de água pela parede da coluna. As análises de nitrogênio também podem apresentar certo nível de erro principalmente por se tratar de um elemento muito dinâmico, sujeito a diversas transformações, as quais podem alterar seu teor na amostra.

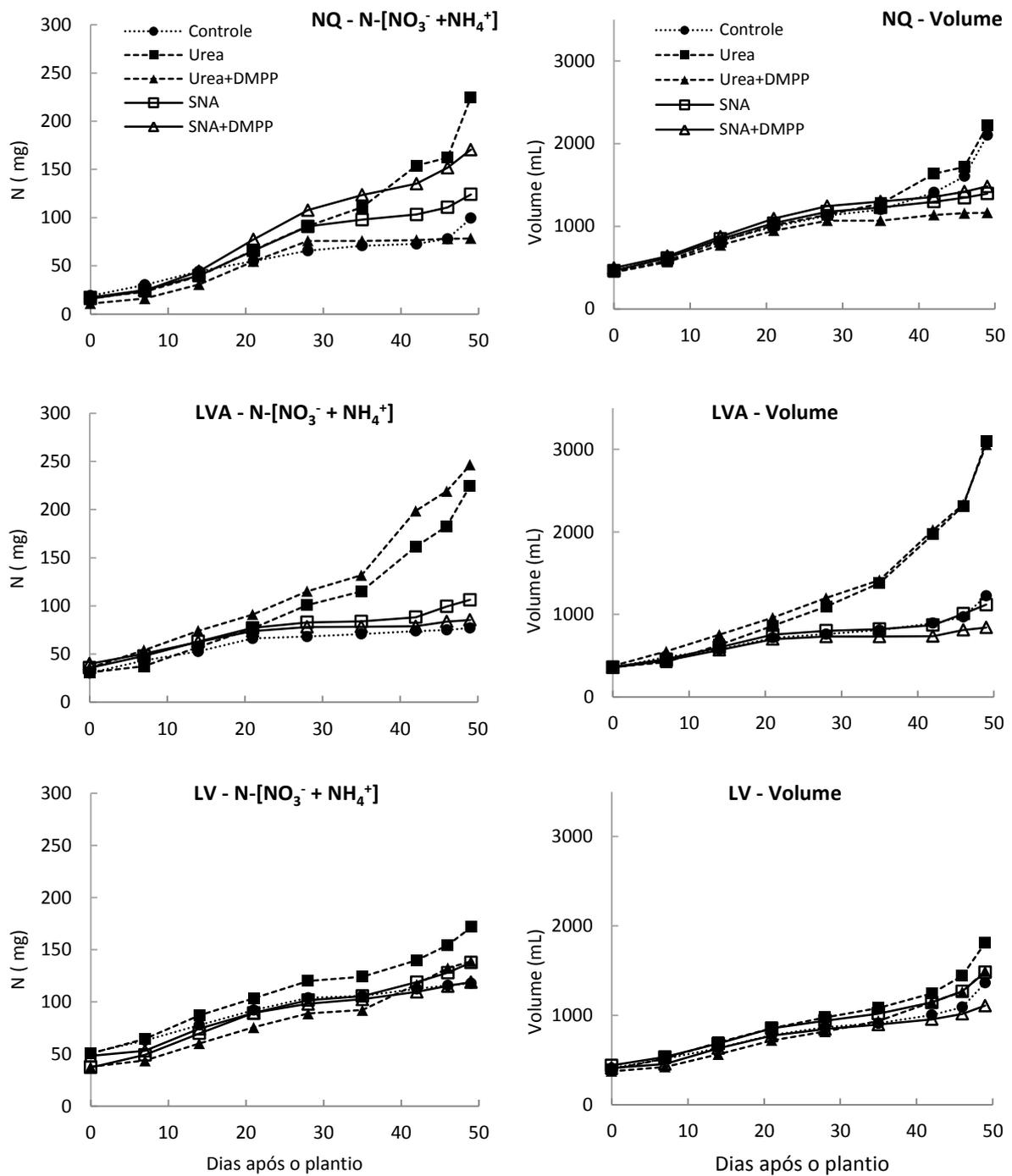


Figura 15 - Lixiviação de $N-[NO_3^- + NH_4^+]$ acumulada e volume lixiviado acumulado em colunas cultivadas com algodão nos solos Neossolo Quartzarênico (NQ), Latossolo Vermelho Amarelo (LVA) e Latossolo Vermelho (LV) adubados com ureia (UR) e sulfonitrato de amônio, com e sem inibidor de nitrificação (DMPP)

Na Figura 15, observa-se no solo NQ maior perda de N por lixiviação e maior drenagem até por volta dos 30 dias. Durante esse período, o inibidor teve papel marcante mantendo o N na forma amoniacal menos susceptível à lixiviação excessiva enquanto a planta ainda não tinha raiz suficiente, além da demanda por água e nitrogênio ser menor. Com o crescimento das plantas, a evapotranspiração aumentou, resultando em menor volume de água disponível para drenagem. Após os 30 dias de cultivo a quantidade de água necessária para provocar lixiviação nas colunas aumentou consideravelmente. A absorção de N pelo algodão iniciou-se lentamente e atingiu o pico somente no florescimento (THOMPSON, 1999), por volta dos 40-45 dias. Com o aumento na absorção de N, menor quantidade do elemento ficou disponível na solução para ser lixiviado.

No solo NQ, o tratamento UR+DMPP apresentou volume drenado e lixiviação de N significativamente menor do que UR (Tabela 12). Foi também o tratamento que favoreceu maior produção de massa de matéria seca das plantas (Tabela 13). No tratamento UR a perda de N parece mais constante ao longo do tempo, provavelmente pelo fato da grande perda de N no início causar menor crescimento da planta, como consequência o consumo de água foi menor, sendo maior o volume drenado, carregando mais N. Verifica-se que o volume de água drenado aumentou no final do ciclo em função do volume de irrigação ser aumentado para atender a alta demanda hídrica das plantas e ainda garantir a lixiviação. A quantidade de água não foi suficiente para causar grande drenagem no tratamento UR+DMPP, que apresentava plantas maiores, favorecendo maior consumo de água. Porém, nos tratamentos controle e UR, as plantas não necessitaram de tanta água, pois, estavam menos desenvolvidas e com isto maior volume acabou sendo drenado.

Como se pode observar pelos testes estatísticos apresentados na Tabela 12, as diferenças de volume drenado e N lixiviado entre os tratamentos SNA e SNA+DMPP não foram significativas no solo NQ, provavelmente devido à grande variabilidade verificada nos resultados das análises das concentrações de nitrogênio na água desses tratamentos. Pelas análises efetuadas no solo também não foram encontradas diferenças significativas entre conteúdo de N-mineral, N-amoniacal e N-nitríco entre os dois tratamentos. As plantas dos tratamentos SNA e SNA+DMPP

também não apresentaram diferença significativa na produção de matéria seca (Tabela 13).

Tabela 12 - Quantidade de N-NO_3^- , N-NH_4^+ e $\text{N-}[\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+]$ lixiviada e volume drenado em colunas de lixiviação cultivadas com algodoeiro com os solos Neossolo Quartzarênico (NQ), Latossolo Vermelho Amarelo (LVA) e Latossolo Vermelho (LV) adubados com ureia (UR) e sulfonitrato de amônio (SNA), com e sem inibidor de nitrificação (DMPP)

Tratamento	NQ	LVA	LV
N-NH_4^+ (mg)			
Controle	25,8 abA	3,4 bB	4,3 aAB
SNA	21,3 bA	3,1 bA	3,8 aA
SNA+DMPP	44,3 abA	1,6 bB	3,1 aAB
UR	77,8 aA	10,8 aB	5,6 aC
UR+DMPP	3,2 bB	12,2 aA	5,8 aB
N-NO_3^- (mg)			
Controle	69,8 aB	73,8 bAB	103,1 aA
SNA	102,9 aA	103,3 bA	133,9 aA
SNA+DMPP	126,3 aA	83,9 bA	115,9 aA
UR	147,2 aA	214,0 aA	166,0 aA
UR+DMPP	75,3 aB	234,2 aA	133,1 aB
$\text{N-}[\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+]$ (mg)			
Controle	95,6 abA	77,2 bA	107,3 bA
SNA	124,2 abA	106,4 bA	137,7 abA
SNA+DMPP	170,6 abA	85,5 bA	119,0 abA
UR	224,9 aA	224,8 aA	171,6 aA
UR+DMPP	78,5 bB	246,5 aA	138,8 abB
Volume drenado (mL)			
Controle	2.101,3 aA	1.152,5 bB	1.363,8 abB
SNA	1.395,3 bA	1.118,0 bA	1.480,8 abA
SNA+DMPP	1.482,5 bA	841,5 bB	1.108,6 bAB
UR	2.216,0 aAB	3.093,5 aA	1.809,0 aB
UR+DMPP	1.162,3 bB	3.057,5 aA	1.495,3 abB

Médias seguidas por letras diferentes, minúsculas entre tratamentos e maiúsculas entre solos, diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

No solo LVA pode-se observar que os tratamentos UR e UR+DMPP apresentaram volume drenado superior em relação aos demais tratamentos, em função do pouco desenvolvimento das plantas devido aos danos causados pela

primeira aplicação de ureia. O volume de água percolado e quantidade de N lixiviada não diferiram entre UR e UR+DMPP no LVA. Esperava-se encontrar alguma diferença na lixiviação de N entre os dois tratamentos, pois, o teor N-mineral no tratamento UR+DMPP foi significativamente maior (61%) do que aquele observado para UR (Tabela 11). Entre os tratamentos SNA e SNA+DMPP também não foram encontradas diferenças significativas no volume percolado e na quantidade de N lixiviada, o que não é estranho, visto que, a produção de matéria seca das plantas (Tabela 13) e o conteúdo de N-mineral do solo (Tabela 11) também não diferiram.

Para o solo LV também não foi observada diferença significativa no volume percolado e na quantidade de N lixiviada entre tratamentos com e sem DMPP, tanto para ureia quanto para SNA.

Os solos LV e LVA apresentam maior capacidade de fornecimento de N, assim o efeito dos fertilizantes nitrogenados foi menor, o que explicaria a menor variação no desenvolvimento das plantas entre os tratamentos nesses solos, por consequência a drenagem e lixiviação de N também variaram menos (Tabela 12).

Constatou-se que a variação na drenagem entre os tratamentos foi o fator que mais influenciou a quantidade de N lixiviada. O volume de água drenado por sua vez, pareceu estar fortemente relacionado à produção de matéria seca das plantas. Neste sentido, plantas com maior produção de biomassa e área foliar tenderam a absorver mais água do solo devido a maior evapotranspiração, resultando em menor volume disponível para drenagem.

Comparando-se as o volume drenado entre solos para o tratamento controle foi possível verificar maiores valores no NQ, porém, a lixiviação de N-mineral não foi significativamente maior do que nos outros solos. Pode-se aventar que tal fato se deve a origem do N lixiviado, o qual viria principalmente da mineralização da matéria orgânica do solo e não do fertilizante. Embora tenha ocorrido maior drenagem no NQ, observou-se menor teor de N-nativo, o que equilibrou a lixiviação de N com os outros solos, que apresentaram menor volume drenado, porém, maior teor de N nativo. A maior drenagem observada no tratamento controle do solo NQ deve ter sido consequência tanto de sua textura mais arenosa, quanto do menor desenvolvimento das plantas, em função da menor disponibilidade de nutrientes.

A adição do fertilizante nitrogenado favoreceu maiores valores de quantidade de N-mineral lixiviado em relação aos tratamentos controles em todos os solos. Todavia, observou-se diferença significativa somente para o solo LVA para os tratamentos com UR e UR+DMPP e no LV para o tratamento UR. No solo LVA as plantas com menor desenvolvimento provocado pelo excesso de ureia na semeadura apresentaram consumo de água e absorção de N inferiores aos demais tratamentos. A maior quantidade de N na solução e maior quantidade de água disponível para ser percolada, favoreceu a maior lixiviação. No solo LV, a nitrificação da ureia pode ter sido mais rápida do que nos outros solos, levando a maior quantidade de nitrato no solo enquanto a planta ainda não demandava muito N, o que pode explicar a lixiviação mais rápida.

4.2.3 Produção de matéria seca e acúmulo de nutrientes pelo algodão

No solo NQ, a utilização do DMPP em ureia aumentou significativamente a produção de matéria seca (48%) em relação à ureia sem DMPP e ao controle no período avaliado (Tabela 13). O acúmulo dos nutrientes N (38%), P (89%), K (51%) e S (31%) também foi significativamente maior para o tratamento UR+DMPP. A concentração de fósforo na raiz também foi significativamente maior. Para a maioria dos outros nutrientes observou-se maiores valores de concentração para o tratamento com UR+DMPP em comparação a aquele com UR, porém, sem diferença significativa (Tabela 14). Portanto, o maior acúmulo dos nutrientes se deve a maior produção de matéria seca, com exceção do fósforo, que foi acumulado em maior quantidade também devido a sua maior concentração da planta. A utilização do DMPP no fertilizante SNA não resultou em resultados tão expressivos quanto aqueles observados quando se forneceu ureia. Somente o acúmulo de P aumentou significativamente quando se utilizou o inibidor, reflexo da maior concentração do elemento na parte aérea da planta. Porém, nota-se que esse aumento (25%) foi menor que o observado entre os tratamentos com o fornecimento de UR e UR+DMPP. A produção de matéria seca foi igual entre os tratamentos com SNA e SNA+DMPP, provavelmente pelo fato do P não ter sido limitante. Observa-se que o

DMPP claramente favoreceu a absorção de fósforo pela planta, em concordância com os resultados relatados por Rahmatullah et al. (2006).

Tabela 13 - Acúmulo de nutrientes (mg) e produção de matéria seca (g) em algodoeiro cultivado em três solos adubados com ureia (UR) e sulfonitrato de amônio (SNA) com e sem inibidor de nitrificação (DMPP)

Tratamento	N	P	K	S	Ca	Mg	MS
	----- mg vaso ⁻¹ -----						g vaso ⁻¹
<i>Neossolo Quartzarênico (NQ)</i>							
Controle	98,1 cC	24,1 cA	81,3 bB	5,9 dB	119,3 bA	30,8 bB	7,8 cB
SNA	504,8 abA	46,7 bA	242,6 aA	29,8 aA	234,1 aA	58,2 aA	16,8 abA
SNA+DMPP	496,8 abA	57,6 aA	254,9 aA	27,9 aA	224,0 aAB	67,4 aA	16,0 bA
UR	370,2 bcA	27,5 cA	161,1 bA	11,7 cA	181,4 abA	50,4 abA	11,9 cA
UR+DMPP	512,3 aA	51,9 abA	242,7 aA	17,0 bA	240,4 aA	57,9 aA	17,6 aA
<i>Latossolo Vermelho Amarelo (LVA)</i>							
Controle	139,9 cB	27,4 abA	110,2 bAB	10,5 abA	186,0 bcA	56,9 aA	11,4 bA
SNA	488,0 aA	34,5 aB	224,1 aA	23,4 aB	259,4 cA	74,3 aA	16,1 aA
SNA+DMPP	526,5 aA	37,6 aB	219,9 aAB	21,9 aAB	262,3 cA	63,7 aA	16,9 aA
UR	98,2 bA	7,7 bA	41,6 bA	2,2 bA	44,2 abA	12,2 aA	4,5 bA
UR+/DMPP	329,8 abA	24,9 bA	161,8 abB	7,2 bA	132,9 aA	45,1 aA	10,1 bB
<i>Latossolo Vermelho (LV)</i>							
Controle	176,6 bA	26,4 bA	113,5 bA	9,7 aAB	143,0 bA	32,2 aB	10,0 bA
SNA	505,0 aA	34,4 abB	169,2 aB	13,3 aC	215,0 aA	45,2 aB	13,6 aB
SNA+DMPP	498,7 aA	42,5 aB	183,7 aB	15,7 aB	230,7 aB	42,3 aB	15,3 aA
UR	347,4 bA	29,2 abA	137,1 abA	9,9 aA	166,0 abA	36,1 aA	13,5 aA
UR+DMPP	508,5 aA	36,5 abA	145,8 abB	11,4 aA	166,9 abA	29,5 aA	13,6 aB

Médias seguidas por letras diferentes, minúsculas entre tratamentos e maiúsculas entre solos diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

Tabela 14 - Concentração de nutrientes (g kg^{-1}) na parte aérea (P.A.) e raiz de algodoeiro cultivado em três solos adubados com ureia (UR) e sulfonitrato de amônio (SNA), com e sem inibidor de nitrificação (DMPP)

Tratamento	Nitrogênio		Potássio		Fósforo		Enxofre		Cálcio		Magnésio	
	P. A.	Raiz	P. A.	Raiz	P. A.	Raiz	P. A.	Raiz	P. A.	Raiz	P. A.	Raiz
----- g kg^{-1} -----												
<i>Neossolo Quartzarênico (NQ)</i>												
Controle	13,4 bB	8,6 cB	10,6 bA	10,1 aA	3,5 abA	1,2 bB	0,6 cA	1,5 aB	19,5 bB	14,0 aA	8,3 abA	3,2 aAB
SNA	30,9 aB	19,9 aA	15,0 aA	10,4 aA	2,9 cA	1,8 aA	1,8 aA	1,8 aA	23,1 abB	13,0 aA	6,7 cB	3,1 aA
SNA+DMPP	32,5 aA	14,7 bA	16,4 aA	10,2 aA	3,8 aA	2,0 aA	1,8 aA	1,8 aA	26,8 abA	12,8 aA	7,9 abcA	3,9 aA
UR	32,4 aAB	17,4 abA	14,0 aA	10,5 aA	2,5 cA	1,3 bB	0,9 bA	1,4 aB	29,1 aA	13,9 aA	8,8 aAB	3,6 aA
UR+DMPP	30,3 aB	18,8 abA	14,2 aA	10,2 aAB	3,1 bcA	1,7 aA	0,9 bA	1,7 aA	20,0 abA	12,8 aA	7,3 bcA	2,8 aA
<i>Latossolo Vermelho Amarelo (LVA)</i>												
Controle	12,6 bB	9,9 cdAB	9,7 cA	7,8 bA	2,5 aB	1,8 aAB	0,7 abcA	1,6 cB	27,8 bcA	13,5 aA	8,1 aAB	4,3 aA
SNA	31,7 aAB	16,1 abA	14,4 abAB	9,7 abA	2,2 aA	1,4 aB	1,5 aAB	1,8 bA	33,3 abA	14,3 aA	6,9 aB	4,5 aA
SNA+DMPP	32,6 aA	17,7 aA	13,5 bB	8,3 abA	2,3 aC	1,5 aA	1,2 abAB	1,8 bA	29,8 abcA	14,0 aA	6,4 aB	3,5 aA
UR	32,6 aA	7,2 dB	13,0 bcA	10,3 abA	2,6 aA	2,3 aA	0,7 bcA	2,4 aA	36,6 aA	12,9 aA	7,7 aB	3,6 aA
UR+DMPP	34,9 aAB	11,8 bcA	16,4 aA	12,2 aA	2,6 aA	1,6 aA	0,5 cA	2,7 aA	3,5 cB	14,3 aA	7,0 aA	4,1 aA
<i>Latossolo Vermelho (LV)</i>												
Controle	18,9 cA	11,1 bA	12,0 aA	7,2 aA	2,8 aB	1,7 aA	0,7 aA	2,3 aA	21,8 bAB	14,3 aA	6,6 bB	2,6 aB
SNA	39,0 aA	17,7 aA	12,7 aB	9,2 aA	2,6 aA	1,6 abAB	0,9 aB	1,8 bA	32,9 aA	13,8 aA	8,9 aA	2,9 aA
SNA+DMPP	34,3 abA	18,7 aA	12,5 aB	6,9 aA	2,9 aB	1,1 bA	1,0 aB	1,8 bA	32,9 aA	13,6 aA	9,8 aA	2,0 aB
UR	26,3 cB	18,7 aA	13,7 aA	7,9 aA	2,9 aA	2,0 aA	0,8 aA	2,5 aA	35,8 aA	13,4 aA	9,5 aA	2,8 aA
UR+DMPP	37,3 abA	19,2 aA	14,2 aA	7,3 aB	3,2 aA	1,4 bA	0,7 aA	2,7 aA	29,7 aA	12,9 aA	8,3 aA	2,0 aA

Médias seguidas por letras diferentes, minúsculas entre tratamentos e maiúsculas entre solos diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

Considerando ainda o solo NQ, a produção de matéria seca foi semelhante entre os tratamentos SNA, SNA+DMPP e UR+DMPP, enquanto no tratamento UR foi significativamente inferior e sem diferença ao tratamento controle. Poderia-se supor que a menor produção de matéria seca com UR fosse devida as perdas de N por volatilização, porém, o tratamento UR+DMPP também estaria sujeito a esse tipo de perda e não apresentou queda de produção em relação ao tratamento com SNA. Deve-se considerar também que, o fertilizante foi diluído em água para aplicação. Conforme discutido no item anterior, a menor produção de matéria seca no tratamento UR pode ser explicada pela maior perda de N por lixiviação com conseqüente redução do N disponível no solo para a planta. A concentração de enxofre nos tratamentos com ureia foi significativamente inferior aos tratamentos com SNA no solo NQ, o que também parece não ter limitado a produção de matéria seca, pois os valores para UR+DMPP e SNA+DMPP foram semelhantes.

No solo LVA, as plantas dos tratamentos UR e UR+DMPP apresentaram problemas de desenvolvimento devido à aplicação da ureia no primeiro parcelamento. A drenagem mais lenta desse solo retardou a dispersão da ureia após sua aplicação. O aumento do valor de pH do solo pela hidrólise da ureia provavelmente causou danos as plântulas. Assim, as plantas dos tratamentos UR e UR+DMPP apresentaram menores produções matéria seca em relação àquelas observadas para os tratamentos SNA e SNA+DMPP. Não houve diferença significativa no acúmulo e na concentração dos nutrientes analisados e na produção de matéria seca para a aplicação de SNA e SNA+DMPP.

No solo LV o uso do inibidor apresentou efeito significativo aumentando o acúmulo de nitrogênio em mais de 50% quando foi utilizado com ureia. A concentração de N na parte aérea foi significativamente maior no tratamento UR+DMPP em relação à UR (Tabela 14). Com relação aos demais nutrientes analisados, bem como com a produção de matéria seca, não foram verificadas diferenças entre tratamentos. O maior acúmulo (Tabela 13) de N verificado quando se utilizou DMPP na ureia não se traduziu em maior produção de matéria seca. Provavelmente o N não foi limitante nesse caso, visto que se trata de um solo com bom elevado teor de matéria orgânica, alta relação C/N e, portanto, potencial capacidade de fornecer N à planta.

4.2.4 Eficiência do uso do nitrogênio

Cabe salientar que o presente estudo não avaliou o efeito do inibidor na produtividade de fibra ou sementes de algodão, pois as plantas foram coletadas na época do florescimento. Foi avaliada apenas a produção de matéria seca da planta (parte aérea e raízes), o que algumas vezes pode se correlacionar negativamente com a produtividade de fibra e sementes. Quando elevadas doses de N são utilizadas, por exemplo, o crescimento vegetativo da planta pode ser favorecido em detrimento da produtividade de fibra e sementes (THOMPSON, 1999).

A definição de eficiência agrônômica, segundo Fageria, Santos e Cutrim (2007) é a quantidade adicional de rendimento econômico (em relação à testemunha) por unidade de nutriente aplicada. Para a cultura do algodão, por definição, o índice deveria ser calculado dividindo-se a quantidade adicional de pluma ou semente produzida no tratamento com fertilizante dividido pela dose aplicada do nutriente. Nesse estudo, porém, foi utilizada a produção de matéria seca total pelo fato da planta não ter sido mantida até o final do seu ciclo. Considerou-se apenas o efeito do inibidor na eficiência de uso do N para planta, sem a intenção de extrapolar os resultados para ganhos econômicos reais.

A recuperação do nitrogênio do fertilizante na planta pode ser calculada diretamente utilizando-se fertilizantes enriquecidos em ^{15}N (método do traçador isotópico), o que foi realizado no terceiro experimento. Nesse experimento, porém, foi utilizado somente o método da diferença que nos fornece a recuperação aparente do nitrogênio do fertilizante, considerada neste estudo como eficiência de recuperação segundo Fageria, Santos e Cutrim (2007). Esse método supõe que a imobilização, a mineralização e outras transformações do N no solo que ocorrem durante o experimento são as mesmas nas parcelas com e sem fertilizante (HAUCK; BREMNER, 1976). Tais suposições nem sempre são verdadeiras. Diversos fatores são relatados na literatura como causa do aumento da disponibilidade de N nativo no solo quando se adiciona N mineral como, por exemplo, a estimulação da atividade biológica pela adição de N do fertilizante; a nitrificação como causa da hidrólise ácida de substâncias orgânicas do solo, pelo efeito osmótico; as mudanças nos processos fisiológicos das plantas induzido por fertilizantes; o aumento do

crescimento do sistema radicular em parcelas fertilizadas. Se algum destes fatores ou processos causarem aumento significativo na absorção do N nativo do solo em parcelas fertilizadas, o método da diferença irá superestimar as medidas de recuperação do N-fertilizante. Quando a disponibilidade de N do solo é mais do que suficiente para suprir as necessidades da planta, o método da diferença subestimar a recuperação do N-fertilizante (JENKINSON; FOX; RAYNER, 1985).

No caso desse experimento, a disponibilidade de N do solo não foi suficiente, pois as plantas do controle sempre apresentaram menor acúmulo de nitrogênio e produção de matéria seca quando comparadas àquelas dos tratamentos nos quais se aplicou N. Portanto, os valores apresentados podem conter certa superestimação dos valores reais.

Em nenhum dos solos foi verificada diferença significativa entre os tratamentos SNA e SNA+DMPP para os índices de eficiência calculados (Tabela 15), o que é condizente com os resultados das análises de nitrogênio mineral no solo e água percolada e da produção de matéria seca pelas plantas, nas quais também não foram encontradas diferenças entre esses tratamentos.

No solo NQ, o tratamento com UR+DMPP apresentou índices de eficiência similares aos tratamentos SNA e SNA+DMPP. O tratamento com UR resultou em menor eficiência pelos três índices considerados em relação aos outros tratamentos. A eficiência agrônômica aumentou 137%, a eficiência fisiológica 56% e a eficiência de recuperação 47% em UR+DMPP quando comparado ao tratamento UR. Resultado também condizente com o maior teor de nitrogênio encontrado no solo e menor quantidade de N lixiviada em UR+DMPP (Tabelas 11 e 12). Nas avaliações de incubação realizados no primeiro experimento deste trabalho, foram verificadas as maiores taxas de inibição da nitrificação também para o tratamento UR+DMPP no solo NQ. Portanto, o uso do DMPP aumentou a eficiência de uso de N nesse caso. Como se trata de um solo com baixa capacidade de fornecimento de nitrogênio à planta, pode-se considerar que a quantidade de N a mais que permaneceu no solo por não ser lixiviada fez diferença no crescimento da planta, promovendo maior produção de matéria seca.

Tabela 15 - Valores de eficiência agrônômica (EA), eficiência fisiológica (EF) e eficiência de recuperação (ER) do nitrogênio pelo algodoeiro cultivado em três solos adubados com ureia (UR) e sulfonitrato de amônio (SNA), com e sem inibidor de nitrificação (DMPP)

Tratamento	NQ	LVA	LV
Eficiência agrônômica (kg kg ⁻¹)			
SNA	5,5 aA	2,9 aAB	2,2 aB
SNA+DMPP	5,0 aA	3,4 aA	3,2 aA
UR	2,5 bA	-*	2,1 aA
UR+DMPP	6,0 aA	-*	2,4 aB
Eficiência fisiológica (kg kg ⁻¹)			
SNA	23,3 abA	9,5 aA	11,5 aA
SNA+DMPP	21,4 abA	11,8 aB	16,5 aAB
UR	13,3 bA	-*	22,2 aA
UR+DMPP	23,6 aA	-*	13,0 aB
Eficiência de recuperação (%)			
SNA	25,0 abA	21,0 aA	20,0 aA
SNA+DMPP	24,0 abA	24,0 aA	20,0 aA
UR	17,0 bA	-*	11,0 aA
UR+DMPP	25,0 aA	-*	20,0 aA

Médias seguidas por letras diferentes, minúsculas entre tratamentos e maiúsculas entre solos diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). * Dados não mostrados.

No solo LVA, os tratamentos com ureia foram desconsiderados para cálculos de eficiência, visto que, em geral, promoveram menor produção de matéria seca, resultando em menor acúmulo de N comparado ao tratamento controle, devido aos danos causados pela aplicação inicial de ureia.

No solo LV, também não foram obtidas diferenças significativas quando se adicionou DMPP às duas fontes, em nenhum dos índices de eficiência calculados. Nota-se que as plantas absorveram mais nitrogênio em UR+DMPP em relação à UR, porém, a produção de matéria seca não aumentou na mesma magnitude, o que explica a tendência de menor eficiência fisiológica em UR+DMPP.

Os índices de eficiência tenderam a menores valores no solo LV e no LVA, por serem solos com maior capacidade de fornecer N às plantas. Desse modo, a produção de matéria seca e o acúmulo de nitrogênio no tratamento controle – para os solos LVA e LV - foram significativamente maiores do que no solo NQ (Tabela13).

Em geral, os valores de eficiência de recuperação, ou recuperação aparente de nitrogênio foram baixos nos três solos, ficando entre 20 e 25% para UR+DMPP, SNA e SNA+DMPP, e entre 11 e 17% para UR.

4.2.5 Atividade das enzimas redutase do nitrato e urease

A atividade da enzima redutase do nitrato parece ser um bom indicativo sobre a disponibilidade de nitrogênio no solo para a planta. Estudos mostram que plantas com suprimento adequado de nitrogênio apresentam atividade maior dessa enzima. Em estudo de Bilail e Rains (2006) a correlação da atividade dessa enzima foi mais forte com a concentração de $N-NO_3^-$ na solução de cultivo do que com a concentração de $N-NO_3^-$ no tecido da planta.

Tabela 16 - Atividade da enzima redutase do nitrato ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ de NO_2) em folhas de algodoeiro, utilizadas para diagnose, cultivado nos solos Neossolo Quartzarênico (NQ), Latossolo Vermelho Amarelo (LVA) e Latossolo Vermelho (LV), adubados com ureia (UR) e sulfonitrato de amônio (SNA), com e sem inibidor de nitrificação (DMPP)

Tratamento	NQ	LVA	LV
	----- $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ de $N-NO_2^-$ -----		
Controle	9.007 abAB	9.542 abA	8.854 aB
SNA	8.777 abA	9.338 abA	9.032 aA
SNA+DMPP	9.466 aA	9.415 abA	9.313 aA
UR	8.318 bA	9.798 aA	8.216 aA
UR+DMPP	8.956 abA	9.083 bA	8.802 aA

Médias seguidas por letras diferentes, minúsculas entre tratamentos e maiúsculas entre solos diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

Nos solos NQ e LV, embora sejam observados valores de atividade da redutase do nitrato numericamente superiores a aqueles do tratamento que receberam fertilizante com DMPP, essa diferença não foi significativa pelo teste estatístico (Tabela16). As maiores concentrações de N-mineral do solo dos

tratamentos com DMPP provavelmente não foram suficientes para elevar significativamente a atividade da redutase do nitrato na planta, provavelmente pelo fato de que talvez grande parte do N disponível para planta estivesse na forma amoniacal durante o período de cultivo. Todavia, as atividades da enzima para todos os tratamentos foram elevadas, o que pode ser uma característica destas plantas quanto à absorção e redução assimilatória do $N-NO_3^-$, ou ainda, pela contribuição da matéria orgânica no fornecimento do N-nítrico na ocasião da coleta das folhas utilizadas para diagnose. Não se deve desconsiderar também que, nesta ocasião de avaliação o efeito do DMPP pode ter sido reduzido (menor eficiência).

A análise da atividade da enzima urease também não revelou diferenças significativas entre tratamentos com e sem inibidor de nitrificação em nenhuma das fontes de N e nenhum dos solos estudados (Tabela 17). Os resultados desse trabalho não revelaram nenhum padrão claro que indique influencia DMPP sobre a atividade dessa enzima. Observou-se, no entanto, maior atividade da enzima nas plantas cultivadas no solo NQ com o tratamento SNA+DMPP, em relação aos demais solos, bem como maior atividade nas plantas cultivadas no solo LVA comparado ao LV e com a aplicação de ureia.

Tabela 17 - Atividade da enzima urease ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ de $N-NH_4^+$) em folhas de algodoeiro, utilizadas para diagnose, cultivado em colunas de lixiviação com os solos Neossolo Quartzarênico (NQ), Latossolo Vermelho Amarelo (LVA) e Latossolo Vermelho (LV), adubados com ureia (UR) e sulfonitrato de amônio (SNA), com e sem inibidor de nitrificação (DMPP)

Tratamento	NQ	LVA	LV
	----- $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ de $N-NH_4^+$ -----		
Controle	18.852 aA	21.416 aA	21.782 aA
SNA	17.387 aA	15.190 aA	12.992 bA
SNA+DMPP	19.768 aA	12.809 aB	11.710 bB
UR	17.204 aAB	26.361 aA	12.809 abB
UR+DMPP	19.768 aA	13.175 aA	13.725 abA

Médias seguidas por letras diferentes, minúsculas entre tratamentos e maiúsculas entre solos diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

4.3 Experimento 3 - Efeito do DMPP em ureia na recuperação de ^{15}N do fertilizante na planta e no solo na cultura do algodão

4.3.1 Análise do N do solo após cultivo do algodão

As fontes de N não promoveram efeito significativo na porcentagem de nitrogênio total no solo após o cultivo do algodão (90 dias). Porém, esta variável-resposta respondeu positivamente às doses de N (Tabela 18). O incremento na porcentagem de N do solo pelo N aplicado, entretanto, foi pequeno, como pode ser observado na Figura 16.

Tabela 18 – N-total, N-nítrico e N-amoniaco no solo em função de doses e fontes de nitrogênio em algodoeiro cultivado em colunas de lixiviação

Tratamento	N	N-NO ₃ ⁻ (mg kg ⁻¹)	N-NH ₄ ⁺ (mg kg ⁻¹)
	-----mg kg ⁻¹ -----		
UR	680 a ⁽¹⁾	13,0 a	1,9 a
UR+DMPP	630 a	12,3 a	2,7 a
Teste F	Valores de F		
Fonte	3,292ns	0,086ns	3,937ns
Dose	5,103*	0,074ns	0,007ns
Fonte:Dose	0,008ns	0,346ns	0,522ns
C.V.(%)	11,7	39,9	37,4

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste da diferença mínima significativa ($p < 0,05$)
 **, * e ^{ns} são respectivamente, significativo a 1%, 5% e não significativo pelo teste F.

As concentrações de N-NH₄⁺ e N-NO₃⁻ no solo após o cultivo do algodão não foram afetadas pelo uso do inibidor e nem pelas doses de N (Tabela 18). A quantidade de N-mineral no solo foi significativamente menor em relação ao experimento anterior (Tabela 11), provavelmente pelo fato das plantas terem sido coletadas mais tardiamente. Isto pode ter favorecido a absorção de N, resultando em menor quantidade de N disponível no solo.

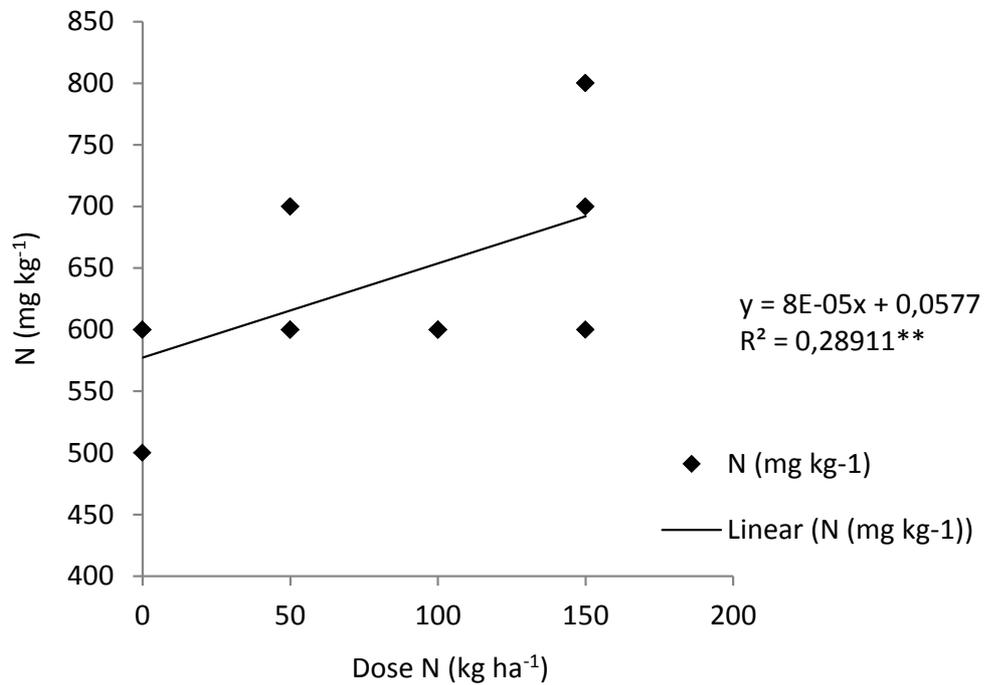


Figura 16 - Nitrogênio total no solo em função de doses de nitrogênio após cultivo de algodoeiro em colunas de lixiviação. ** significativo a 1% pelo teste t

4.3.2 Análise da água percolada durante o cultivo do algodão

A quantidade de N mineral lixiviado foi significativamente menor quando se aplicou UR+DMPP (Tabela 19), devido à menor lixiviação de nitrato. A quantidade de N-mineral perdida por lixiviação aumentou de forma linear e significativa com a dose de ureia, como pode ser observado na Figura 17. Por outro lado, a lixiviação de N-mineral não variou em função das doses de N quando se utilizou o inibidor de nitrificação (Figura 17). No tratamento controle a perda de N por lixiviação também foi baixa, não diferindo dos tratamentos com DMPP, mesmo o volume drenado sendo quase o dobro quando comparado aos tratamentos com N (Figura 18).

Tabela 19 - Volume de água drenada e quantidade de nitrogênio mineral lixiviado no solo cultivado com algodoeiro em colunas de lixiviação, em função de doses e fontes de nitrogênio

Tratamento	Volume	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₃ ⁻	N-(NO ₃ ⁻ + NH ₄ ⁺)
	--- mL ---	----- mg -----		
UR	1.893	4,0	22,2 a	26,2 a
UR+DMPP	1.875	3,2	4,0 b	7,2 b
Teste F	Valores de F			
Fonte	0,010ns	1,158ns	31,99**	29,86**
Dose	0,001ns	0,883ns	13,97**	13,41**
Fonte:Dose	0,259ns	0,542ns	16,63**	15,46**
CV (%)	45,8	52,4	121,4	96,4

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste da diferença mínima significativa ($p < 0,05$) **, * e ^{ns} são respectivamente, significativo a 1%, 5% e não significativo pelo teste F.

A diferença na quantidade de N-mineral lixiviada entre as fontes foi grande (7,2 mg para os tratamento com UR+DMPP e 26,2 mg para aqueles com UR), porém, as quantidades são pequenas quando comparadas às doses de N aplicadas, mesmo com a aplicação dos 22 litros de água por coluna, o que corresponderia a um volume de 1.100 mm. Nos dois tratamentos que sofreram maiores perdas, nos quais foram aplicados o equivalente a 100 e 150 kg ha⁻¹ de N na forma de ureia sem DMPP, se todo o N perdido fosse oriundo do fertilizante, equivaleria a 2% do total aplicado. Dentre os tratamentos que receberam ureia com DMPP, a maior perda foi verificada no tratamento que recebeu 50 kg ha⁻¹ de N, equivalendo a 1,4% do aplicado. As análises de abundância de ¹⁵N nas amostras de água não foram efetuadas pela reduzida quantidade de N lixiviada.

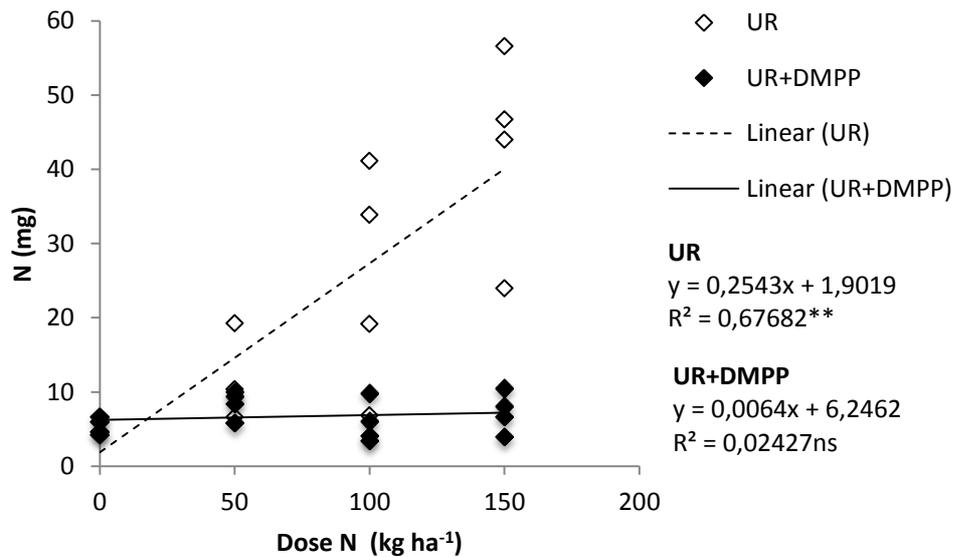


Figura 17 - Quantidade de N-mineral ($N-NO_3^- + N-NH_4^+$) lixiviado em função de doses de nitrogênio nas fontes ureia (UR) e ureia com inibidor de nitrificação (UR+DMPP), durante cultivo de algodoeiro em colunas de lixiviação. **, ns respectivamente significativo a 1% e não significativo pelo teste t

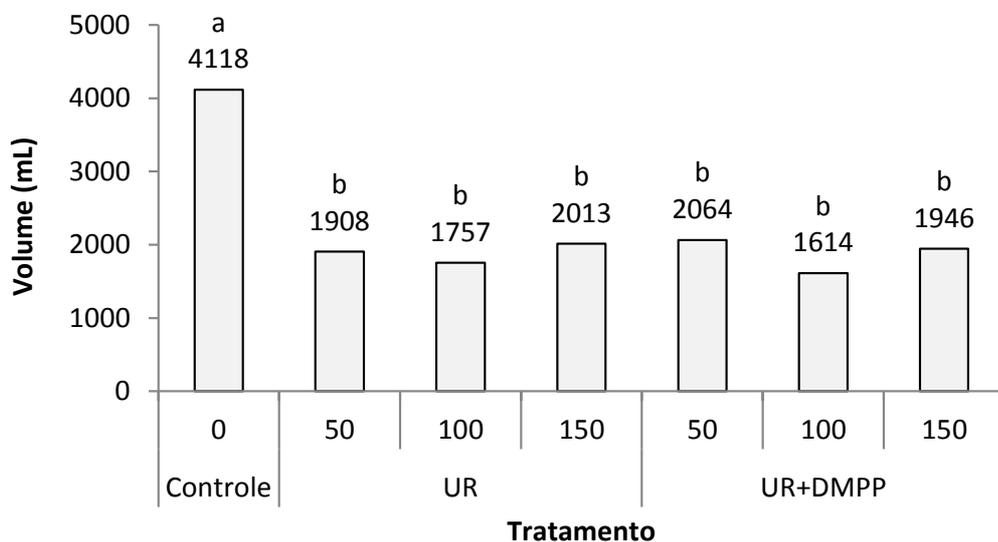


Figura 18 - Volume de água drenada por coluna em colunas de lixiviação cultivadas com algodoeiro adubado com três doses de N na forma de ureia (UR), com e sem inibidor de nitrificação (DMPP). Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste da diferença mínima significativa ($p < 0,05$)

4.3.3 Produção de matéria seca e teor de N na planta

Todos os tratamentos que receberam aplicação de N apresentaram massa de matéria seca significativamente maior do que o tratamento controle (Figura 19), porém, não houve efeito significativo das fontes ou doses de N na produção de matéria seca total pelas plantas de algodão (Tabela 20).

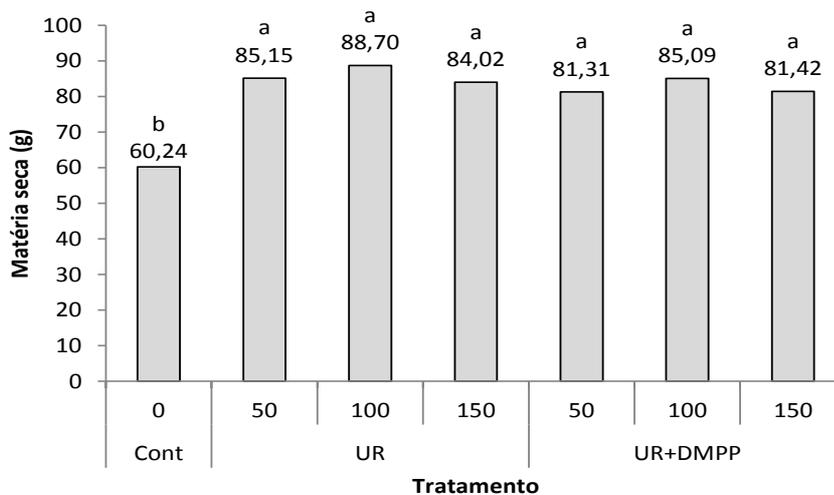


Figura 19 - Massa de matéria seca das plantas de algodoeiro (parte aérea + raiz) adubadas com três doses de N na forma de ureia (UR), com e sem inibidor de nitrificação (DMPP), cultivadas em colunas de lixiviação. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste da diferença mínima significativa ($p < 0,05$)

A porcentagem de N na planta foi significativamente maior quando se aplicou UR+DMPP em relação à UR, considerando-se parte área, raiz e planta toda (Tabela 20). O teor de N na planta foi ajustado ao modelo linear de regressão polinomial, verificando-se efeito significativo das doses de N (Figura 20). Observou-se interação significativa entre fonte e dose para a produção de biomassa da planta toda, sendo que a resposta às doses de N foram maiores para o suprimento de N com UR+DMPP do que com UR, o que fica demonstrado pelo coeficiente angular um pouco maior em UR+DMPP (0,0097) do que para UR (0,007).

Tabela 20 - Massa de matéria seca e teor de nitrogênio na parte aérea (PA), raízes e na planta toda em função de fontes e doses de N aplicados em algodoeiro cultivado em colunas de lixiviação

Tratamento	Matéria seca			Teor de N		
	Parte aérea	Raiz	Planta	Parte aérea	Raiz	Planta
	----- g vaso ⁻¹ -----			----- g kg ⁻¹ -----		
UR	74,0	12,1	86,1	12,0 b	8,0 b	12,0 b
UR+DMPP	71,4	11,0	82,4	16,0 a	9,0 a	15,0 a
Teste F	Valores de F					
Fontes	1,740ns	2,356ns	2,849ns	44,739**	12,267**	46,366**
Doses	0,009ns	0,001ns	0,010ns	335,983**	205,047**	357,201**
Fontes:Doses	0,744ns	0,224ns	0,023ns	4,238ns	2,157ns	4,926*
CV (%)	12,5	18,0	12,5	40,7	35,2	40,3

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste da diferença mínima significativa ($p < 0,05$)
 **, * e ^{ns} são respectivamente, significativo a 1%, 5% e não significativo pelo teste F.

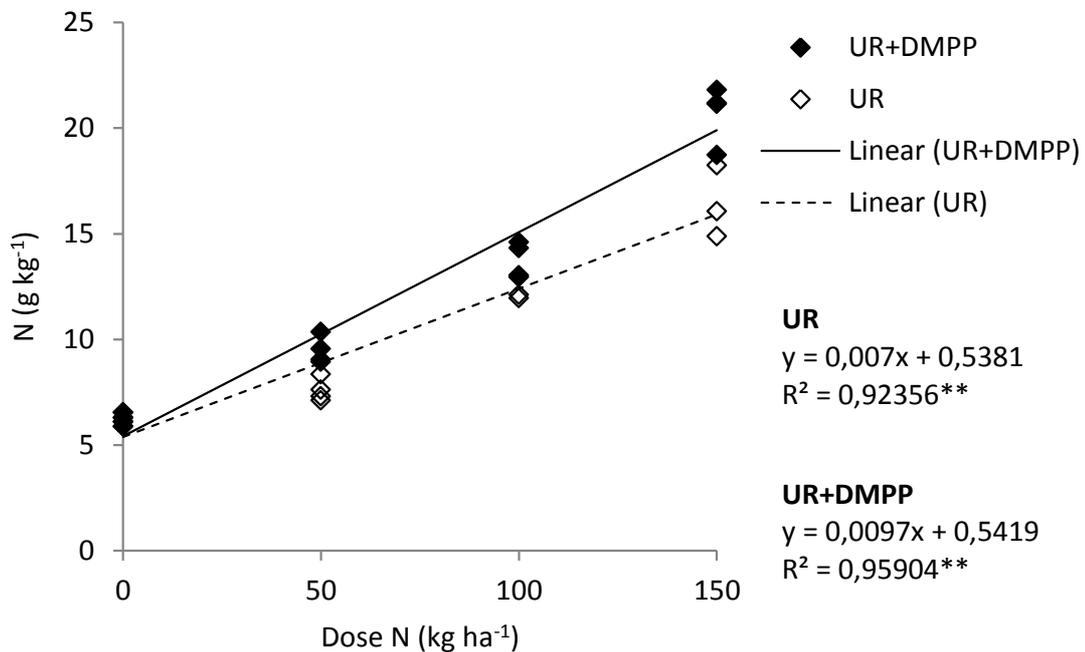


Figura 20 – Relação entre teor de N na planta e doses de N aplicadas na forma de ureia (UR) com e sem inibidor de nitrificação (DMPP) em plantas de algodoeiro cultivadas em colunas de lixiviação. ** significativo pelo teste t a 1%

A quantidade de nitrogênio na planta proveniente do solo aumentou ligeiramente na maioria dos tratamentos nos quais se aplicou ^{15}N (Figura 21), evidenciando possível ocorrência de "*priming effect*" ou interação do nitrogênio adicionado ("*added nitrogen interaction*" - ANI), que é o aumento da absorção de N proveniente do solo causado pela adição do N-fertilizante (JENKINSON; FOX; RAYNER, 1985). O ANI pode ser real se, por exemplo, o N-fertilizante causou aumento do volume de solo explorado pelo sistema radicular, levando a maior absorção do N nativo do solo (JENKINSON; FOX; RAYNER, 1985). Isto, porém, pode não ter sido a principal causa do ANI verificado nesse experimento, pois se observou exploração praticamente total do volume de solo pelas raízes em todos os tratamentos. O ANI pode ter sido aparente, causado pela substituição do N marcado aplicado pelo N nativo não marcado na solução do solo ("*pool substitution*"). Processos como a imobilização microbiana e a desnitrificação podem causar esse efeito (JENKINSON; FOX; RAYNER, 1985).

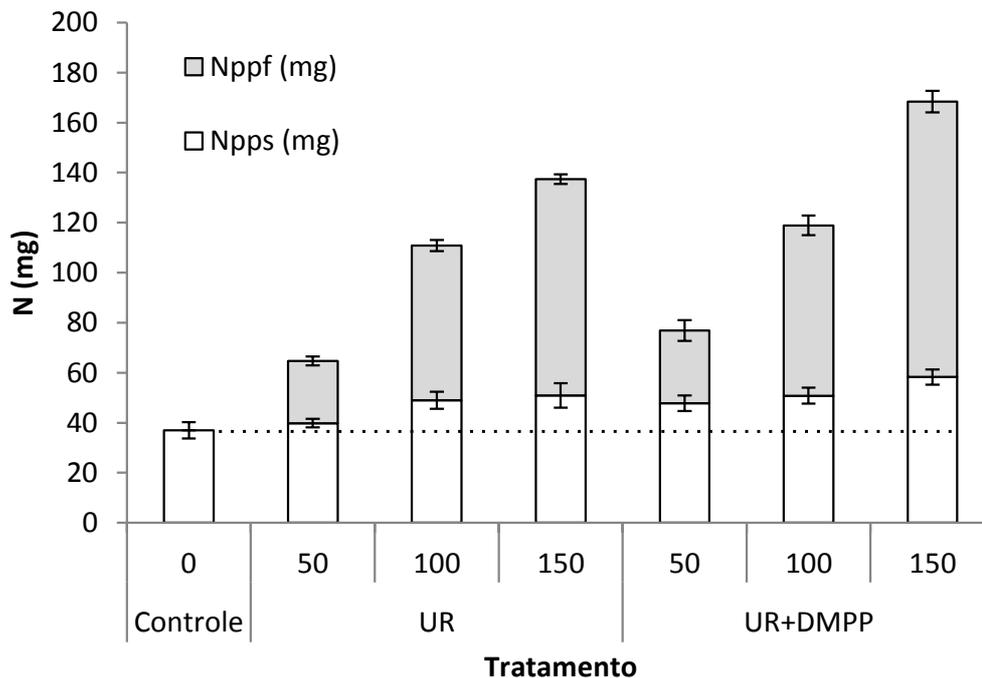


Figura 21 - Quantidade de ^{15}N proveniente do fertilizante (Nppf) e do solo (Npps) em algodoeiro cultivado com três doses (50, 100 e 150 kg ha⁻¹ de N) de ureia (UR), com e sem inibidor de nitrificação (DMPP)

4.3.4 Recuperação do nitrogênio aplicado

Tanto no solo quanto na planta, a recuperação do ^{15}N aplicado foi significativamente maior quando se utilizou DMPP na ureia (Tabela 21), indicando que o uso do inibidor, além de aumentar a eficiência do uso do N pela planta, também reduziu as perdas de N no sistema. A recuperação de ^{15}N na planta aumentou de 48 para 56,6 %; a recuperação no solo aumentou de 14,8 para 17,5% e a recuperação total (solo+planta) incrementou de 62,3 para 74,1% com o uso do DMPP.

Tabela 21 - Porcentagem de recuperação do N do fertilizante na planta, no solo e total (planta+solo) em função de fontes e doses de N aplicados em algodão cultivado em colunas de lixiviação

Tratamento	Recuperação do N do fertilizante		
	Planta	Solo	Total
	----- % -----		
UR	48,0	14,8	62,3
UR+DMPP	56,6	17,5	74,1
Teste F	Valores de F		
Fonte	16,867**	13,430**	26,680**
Dose	13,268**	0,540ns	9,800**
Fonte:Dose	1,053ns	13,370**	4,689*
CV (%)	14,0	15,2	12,7

Os valores de recuperação do ^{15}N aplicado são próximos aos encontrados por Freney et al. (1993) avaliando a eficiência de vários inibidores de nitrificação na recuperação do nitrogênio aplicado no solo e planta na cultura do algodão em campo na Austrália. Quando nenhum inibidor foi utilizado, os autores encontraram recuperação do N aplicado no solo e na planta, na época da maturidade da cultura, de 57%. A recuperação incrementou significativamente para 70% quando o inibidor fenilacetileno foi usado e para 74% quando a nitrapirina foi utilizada. Também na Austrália, Rochester, Constable e Saffigna (1996) obtiveram recuperação do N

aplicado de 33% sem inibidor e ao redor de 50% quando os inibidores nitrapirina, etridiazol e 2-etinilpiridina foram utilizados. Os autores concluíram que os inibidores somente resultaram em efeito significativo na produtividade nas menores doses de N.

A recuperação do N na planta foi representada de forma linear em função da dose de N (Figura 22). Não houve interação entre fontes e doses. Já a recuperação do N no solo apresentou interação significativa entre fontes e doses. Na Figura 23 pode-se observar que quando o DMPP foi utilizado, a recuperação do N no solo aumentou com o aumento da dose, todavia, sem a adição do inibidor a recuperação diminuiu com o aumento da dose de N. Essa observação comprova a hipótese de que o uso do inibidor reduz significativamente as perdas de N do solo, o que pode ser causado por fatores como redução da lixiviação, redução da emissão de gases nitrogenados por nitrificação e desnitrificação, maior absorção de N pela planta e maior imobilização do N-NH_4^+ pela microbiota do solo.

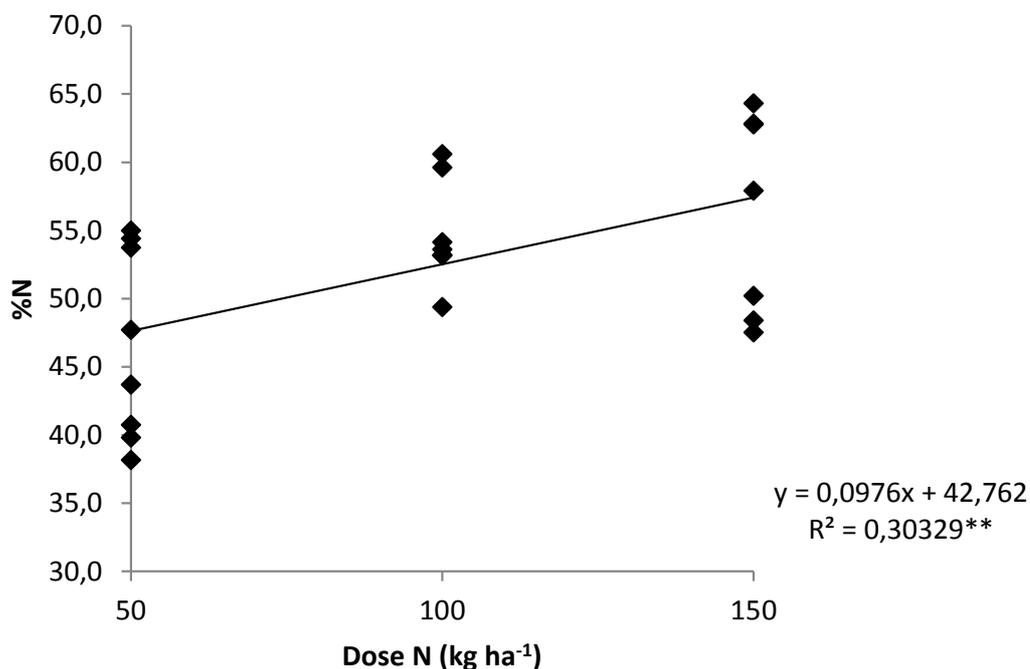


Figura 22 - Recuperação do nitrogênio do fertilizante na planta (%) em função de doses e N em algodão cultivado em colunas de lixiviação. ** significativo a 1% pelo teste t

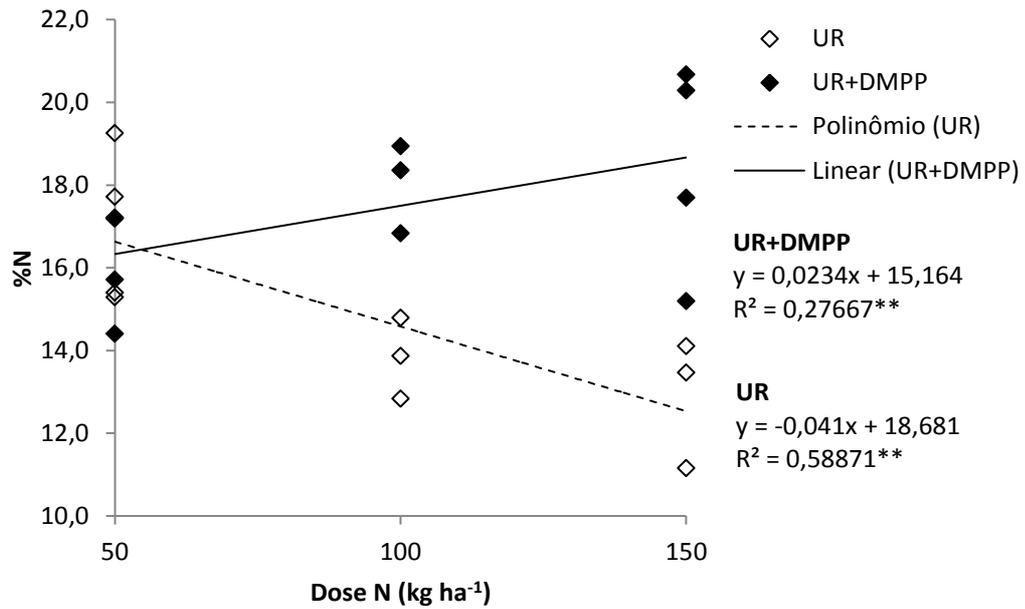


Figura 23 - Recuperação do nitrogênio do fertilizante (%) no solo em função de doses de N na forma de ureia (UR), com e sem inibidor de nitrificação (DMPP) após cultivo de algodoeiro em colunas de lixiviação. ** significativo a 1% pelo teste t

Na Figura 24, observa-se que a recuperação total (solo+planta) do N aplicado se mantém constante conforme a dose de N aumentava quando o inibidor não foi utilizado. Quando o DMPP foi empregado, a recuperação total aumentou juntamente com a dose de N.

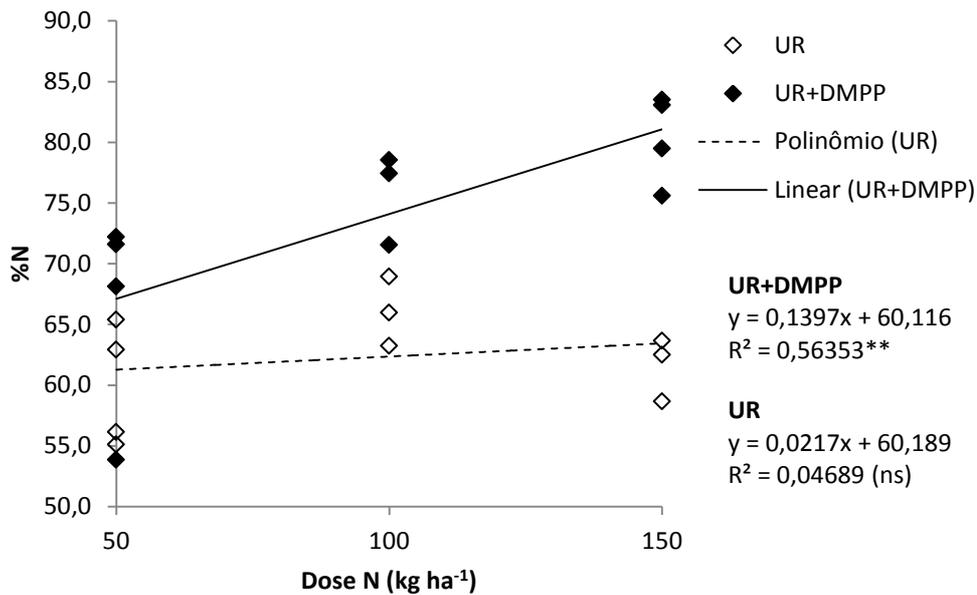


Figura 24 - Recuperação do nitrogênio do fertilizante (%) no solo+planta em função de doses de N na forma de ureia (UR), com e sem inibidor de nitrificação (DMPP), em algodoeiro cultivado em colunas de lixiviação. ** e ^{ns} são, respectivamente, significativo a 1% e não significativo pelo teste t

A maior parte do ¹⁵N aplicado foi recuperada nas plantas. A recuperação total variou de 60% na menor dose de UR a 80% na maior dose de UR+DMPP. A porcentagem de N não recuperado provavelmente corresponde a perdas por volatilização de amônia, e emissão de gases nitrogenados (NO, N₂O e N₂), e lixiviação, inevitáveis em qualquer sistema de cultivo. Grandes perdas por volatilização de NH₃ são improváveis visto que o fertilizante foi aplicado diluído em água e logo após a aplicação o solo recebeu irrigação. A desnitrificação pode ter sido significativa, uma vez que o solo permaneceu sempre bastante úmido devido ao grande volume de água aplicado para que houvesse lixiviação. Como discutido anteriormente as perdas por lixiviação não passaram de 2% do N aplicado. Como apresentado na revisão de literatura, vários trabalhos demonstram que o DMPP é capaz de reduzir significativamente as perdas de N por emissão de N₂O decorrentes tanto da nitrificação quanto da desnitrificação.

4.4 Comentários Finais

Os experimentos 2 e 3 não são comparáveis em termos de recuperação do N aplicado, porque além de usarem metodologias diferentes, no experimento 3 as plantas permaneceram por mais tempo em cultivo, o que favoreceu maior acúmulo de N, e também devido a utilização de duas plantas por vaso ao invés de uma, como no experimento 2. Desse modo, enquanto no experimento 2 foram obtidos valores de recuperação aparente do N aplicado na planta de 11 a 25%, no experimento 3, foram encontrados valores de 48 a 56%. Os valores do terceiro experimento estão próximos aos observados em alguns trabalhos na literatura. Nos Estados Unidos, por exemplo, Craig (2002) estudando efeito residual da adubação do milho na cultura do algodão encontrou valores de recuperação de N do fertilizante marcado com o isótopo ^{15}N entre 30 a 58%. Marcelino (2009) comparando tratamentos com aplicação de UR e UR+DCD na cultura do milho, no Brasil, encontrou recuperação de N do fertilizante na planta de 34,5% sem DCD e 49,2% com DCD (utilizando método do traçador isotópico).

No experimento 2, verificou-se aumento significativo da produção de matéria seca e eficiência do uso do N somente no solo de textura mais arenosa, quando o DMPP foi aplicado em ureia. Pasda, Hahndel e Zerulla (2001), em uma série de experimentos com o DMPP na Europa, verificaram maiores aumentos de produtividade em solos mais leves, nos quais o risco de lixiviação de N é maior. Conforme explica Zerulla (2001), quanto maior o risco de ocorrer lixiviação de nitrato, maior a chance de reposta positiva ao DMPP na produtividade da cultura.

No experimento 3, a quantidade de água aplicada foi muito maior do que no experimento 2 (equivalente a 1.100 mm no experimento 3 e 232 mm no experimento 2). Com o maior volume de água aplicado a lixiviação de N foi significativamente maior quando não se utilizou o inibidor mesmo em um solo de textura média.

Deve-se acrescentar que, o que permitiu maior aplicação de água no experimento 3 foi a adoção do sistema de irrigação por gotejamento automatizado, que aplicava a água em tempo maior, sem encharcar o solo causando danos ao sistema radicular da planta e, por sua vez, favorecendo o aparecimento de doenças.

Experimentos em colunas de lixiviação normalmente superestimam as perdas de N por lixiviação devido a fatores como o escoamento de água pelas paredes do tubo, e maior mineralização do N devido ao manuseio do solo. As análises de nitrogênio tanto no solo quanto na água apresentaram grandes variações mesmo dentro de um mesmo tratamento. Também foi observada variabilidade no volume de água drenado pelas colunas dentro dos tratamentos. Essas duas fontes de variação pode explicar a alta variabilidade na quantidade de N lixiviada. Dessa forma, os resultados encontrados nesse trabalho não devem ser extrapolados para condições de campo. Procurou-se aqui apenas verificar se o DMPP apresenta potencial significativo para melhorar a eficiência de uso de fertilizantes nitrogenados em solos tropicais. Os benefícios encontrados foram redução na perda de N-mineral, manutenção de maior teor de N-amoniaco no solo, maior absorção de fósforo pela planta, maior absorção de nitrogênio pela planta e maior eficiência de uso do nitrogênio quando utilizado. Novos estudos são necessários para verificar se esses benefícios também ocorrerão em condições de campo e em qual magnitude.

5 CONCLUSÕES

Em geral, os melhores resultados são obtidos com a aplicação do DMPP em ureia do que em SNA.

No experimento de incubação, o DMPP é capaz de manter menor o teor de nitrato nos três solos analisados quando aplicado na ureia e no SNA.

A nitrificação do N na ureia é mais rápida do que a do SNA, o que permite melhor desempenho do inibidor na ureia em dois dos três solos analisados (NQ e LVA).

Independentemente da fonte, a ação do DMPP aumenta seguindo a ordem: LV<LVA<NQ. O produto é mais eficiente nos solos com menor teor de argila e matéria orgânica.

O uso do DMPP em ureia aplicada no solo arenoso (NQ) reduz significativamente a lixiviação de N e aumenta a produção de matéria seca de algodão, a eficiência do uso do N e a absorção de fósforo pela planta.

Em um solo de textura média (LVA), sob irrigação intensa, o DMPP também é eficiente em reduzir as perdas de N do sistema aumentando a recuperação do N aplicado na planta e no solo, o que, porém, não se traduz em maior produção de matéria seca, desde que o N não seja limitante.

As atividades das enzimas redutase do nitrato e urease nas folhas do algodoeiro não diferem entre tratamentos com e sem DMPP.

REFERÊNCIAS

AGOSTINI, M. A. V. **Nitrificação heterotrófica sob influência do uso e da acidez do solo**. 2003. 54 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

AMBERGER, A. Mobilization of rock phosphate in soil by root exudates and fertilization techniques. In: International IMPHOS Conference 'Phosphorus, Life and Environment', 4., 1992, Casablanca. **Abstracts...** Brussels: World Phosphate Institute, 1992.

ARAÚJO, A. R. et al. Movimentação de nitrato e amônio em colunas de solo. **Ciência Agrotécnica de Lavras**, Lavras, v. 28, n. 3, p. 537-541, 2004.

ARREGUI, L. M.; QUEMADA, M. Strategies to improve nitrogen use efficiency in winter cereal crops under rainfed conditions. **Agronomy Journal**, Madison, v. 100, n. 2, p. 277-284, 2008

AZAM, F., et al. Release, movement and recovery of 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP), ammonium, and nitrate from stabilized nitrogen fertilizer granules in a silty clay soil under laboratory conditions. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 34, p. 118-125, 2001.

BAÑULS, J. et al. A new nitrification inhibitor (DMPP) improves the nitrogen efficiency in citrus-growing systems. In: HORST, W. J. et al. (Eds.). **Plant nutrition: food security and sustainability of agro-ecosystems**. Dordrecht: Kluwer, 2001. p. 762-763.

BARRIE, A.; PROSSER, S. J. Automated analysis of light-element stable isotopes by isotope ratio mass spectrometry. In: BOUTTON, T. W.; YAMASAKI, S. (Eds.). **Mass spectrometry of soils**. Boca Raton: CRC Press, 1996. p. 1-46.

BARTH, G. **Inibidores de urease e de nitrificação na eficiência de uso de adubos nitrogenados**. 2009, 79 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

BARTH, G. et al. Effectiveness of 3,4 dimethylpyrazole phosphate as nitrification inhibitor in soil as influenced by inhibitor concentration, application form, and soil matric potential. **Pedosphere**, Beijing, v. 18, n. 3, p. 378-385, 2008.

BARTH, G.; et al. Influence of soil parameters on the effect of 3,4-dimethylpyrazole-phosphate as a nitrification inhibitor. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 34, p. 98-102, 2001.

BENGTSSON, G.; BENGTSON, P.; MANSSON, K. F. Gross mineralization-immobilization and nitrification rates as function of soil C/N ratio and microbial activity. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 35, p. 143-154, 2003.

BILAL, I. M.; RAINS, D. W. *In vivo* characterization of nitrate reductase activity in cotton. *Physiologia Plantarum*, Kobenhavn, v. 28, p. 237–243, 1973

BOARETTO, A. E.; MURAOKA, T.; TRIVELIN, P. C. O. Uso eficiente de nitrogênio nos fertilizantes convencionais. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 120, p. 13–14, 2007.

BOCK, E.; WAGNER, M. Oxidation of inorganic nitrogen compounds as an energy source. In: DWORKIN, M. (Ed.). **The prokaryotes**. New York: Springer, 2006. p. 457-495.

BROADBENT, F. E.; TYLER, K. B. Laboratory and greenhouse investigations of nitrogen immobilization. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 26, p. 459-62, 1962.

BRONSON, K. F. et al. Nitrogen-15 recovery in winter wheat as affected by application timing and dicyandiamide. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 55, p. 130–135, 1989

BROUDER, S. M.; CASSMAN, K. G. Cotton root and shoot response to localized supply of nitrate, phosphate and potassium: split-plot studies with nutrient solution and vermiculitic soil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 161, p. 179-193, 1994

BURTON, S. A. Q.; PROSSER, J. I. Autotrophic ammonia oxidation at low pH through urea hydrolysis. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, n. 7, p. 2952-2957, 2001.

CABEZAS, W. A. R. L.; COUTO, P. A. Imobilização de nitrogênio da ureia e do sulfato de amônio aplicado em pré-semeadura ou cobertura na cultura do milho no sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 739-752, 2007.

CAHN, M. D. et al. Cation and nitrate leaching in an Oxisol of the Brazilian Amazon. **Agronomy Journal**, Madison, v. 85, n. 2, p. 334-340, 1993.

CAMACHO, M. A. et al. Doses e fontes de N em cobertura na cultura do algodoeiro em Maracaju (MS). In: CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 7., 2009, Foz do Iguaçu. **Anais...** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2009. p. 2066-2074.

CANTARELLA, H. Uso eficiente do nitrogênio em novos fertilizantes no Brasil. **Informações Agrônomicas**, Piracicaba, n. 120, p. 12-13, 2007.

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P. C. O. Determinação de nitrogênio total em solo. In: RAIJ, B. van; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A., (Eds.). **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. p. 262-269.

CANTARELLA, H.; ZAMBROSI, F. C.B. **Avaliação de Inibidores de Nitrificação DMPP e DCD em solos brasileiros**. Campinas: Instituto Agronômico, 2010.

CARVALHO, M. C. S.; FERREIRA, A. C. B. Eficiência de épocas de aplicação de fontes convencionais e alternativas de fertilizantes nitrogenados na cultura do algodoeiro: safra 2207/2008. In: CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 7., 2009, Foz do Iguaçu. **Anais...** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2009. p. 1860-1868.

CAVALERI, P.; INFORZATO, R. Estudo de sistema radicular do algodoeiro nos três principais tipos de solo do Estado de São Paulo. **Bragantia**, Campinas, v. 15, n. 24, p. 337-346, 1956.

CHAVES, B. et al. Influence of DCD and DMPP on soil N dynamics after incorporation of vegetable crop residues. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 43, p. 62-68, 2006.

CHEN, D. et al. Prospects of improving efficiency of fertiliser nitrogen in Australian agriculture: a review of enhanced efficiency fertilisers. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 46, p. 289–301, 2008.

CLAY, D. E.; MALZER, G. L.; ANDERSON, J. L. Tillage and dicyandiamide influence on nitrogen fertilizer immobilization, remineralization and utilization by maize (*Zea mays* L.). **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 9, p. 220–225, 1990.

CRAIG, J. C. C. **Nitrogen influence of cotton following corn in rotation and foliar foliar fertilization of cotton using leaf blade analysis**. 2002, 139 p. Thesis (Doctor of Philosophy) – Louisiana State University, Agricultural and Mechanical College, Baton Rouge, 2002.

CRUZ, J. L.; PELACANI, C. R.; ARAÚJO, W. L. Efeito do nitrato e amônio sobre o crescimento e eficiência de utilização de nitrogênio em mandioca. **Bragantia**, Campinas, v. 65, n. 3, p. 467-475, 2006.

CURL, E.; TRUELOVE, B. **The rizosphere**. Berlin, . Springer, 1986.

DE BOER, W.; KOWALCHUK, G. A. Nitrification in acid soils: micro-organisms and mechanisms. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, p. 853-966, 2001.

DI, H. J.; CAMERON, K. C. Treating grazed pasture soil with a nitrification inhibitor, eco-nTM, to decrease nitrate leaching in a deep sandy soil under spray irrigation: a lysimeter study. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Wellington, v. 47, p. 351- 361, 2004.

DI, H. J.; CAMERON, K. C. Reducing environmental impacts of agriculture by using a fine particle suspension nitrification inhibitor to decrease nitrate leaching from grazed pastures. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 109, p. 202-212, 2005.

DÍEZ, J. A. et al. Effect of a nitrification inhibitor (DMPP) on nitrate leaching and maize yield during two growing seasons. **Spanish Journal of Agricultural Research**, Valencia, v. 6, n. 2, p. 294-303, 2008.

DITTERT, K. et al. Use of a novel nitrification inhibitor to reduce nitrous oxide emission from ¹⁵N-labelled dairy slurry injected into soil. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, London, v. 15, p. 1291-1296, 2001.

DYNIA, J. F. Nitrate retention and leaching in variable charge soils of a watershed in São Paulo state, Brazil. **Communications in Soil Science in Plant Analysis**, New York, v. 31, n. 5/6, p. 777-791, 2000.

FAGERIA, N. K.; SANTOS, A. B.; CUTRIM, V. A. Produtividade de arroz irrigado e eficiência de uso do nitrogênio influenciadas pela fertilização nitrogenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 7, p. 1029-1034, 2007.

FAIRCHILD, D. O futuro do manejo espacial dos fertilizantes nitrogenados. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 120, p. 10-11, 2007.

FERNANDES, A. M. et al. Brachiaria species affecting soil nitrification. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, p. 1699-1706, 2011.

FERNANDES, F. C. S.; LIBARDI, P. L. Drenagem interna e lixiviação de nitrato em um latossolo sob sucessão milho-braquiária-milho, com diferentes doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, p. 1163-1173, 2009.

FERREIRA, G. B., SEVERINO, G. B., SILVA FILHO, J. L. et al. Aperfeiçoamento da tecnologia de manejo e adubação do algodoeiro no Oeste da Bahia. In: SILVA

FILHO, J. L.; PEDROSA, M. B. (Coords.). **Resultados de pesquisa com a cultura do algodão na Bahia, safra 2003/2004**. Campina Grande, Embrapa Algodão, 2004. p.32-80 (Embrapa Algodão. Documentos, 133).

FERREIRA, G. B.; CARVALHO, M. C. S. **Adubação do algodoeiro no Cerrado com resultados de pesquisa em Goiás e Bahia**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005. 71 p. (Embrapa Algodão. Documentos, 138).

FITZHUGH, R.D.; LOVETT, G. M.; VENTREA, R. T. Biotic and abiotic immobilization of ammonium, nitrite and nitrate in soils developed under different tree species in the Catskill Mountains. **Global Change Biology**, New York, v.9, p. 1591-1601, 2003.

FOLONI, J. S. S.; ROSOLEM, C. A.; GARCIA, R. A. Efeito da calagem e sultado de amônio no algodão. II. Concentração de cátions e ânions na solução do solo e absorção de nutrientes pelas plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, n. 433-442, 2006.

FRANCO, J. A. M.; NETO, A. S. Produção de Fertilizantes Nitrogenados e suprimento de matéria-prima. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S.R.S.; VITTI, G.C. (Eds.). **Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira**. Piracicaba, International Plant Nutrition Institute, 2007. p. 73-107.

FRENEY, J. R. et al. Use of nitrification inhibitors to increase fertilizer nitrogen recovery and lint yield in irrigated cotton. **Fertilizer Research**, v. 34, p. 37-44, 1993

FRYE, W. W. Nitrification inhibition for nitrogen efficiency and environment protection. In: IFA International Workshop on Enhanced-Efficiency Fertilizers, 2005, Frankfurt. **Abstracts...** Paris: International Fertilizer Industry Association, 2005.

FRYE, W. W. et al. Dicyandiamide as a nitrification inhibitor in crop production in the Southeastern USA. **Communications in Soil Science Plant Analysis**, New York, v. 20, p. 1969-1999, 1989.

FUNDAÇÃO MT. **Algodão de Mato Grosso**: qualidade e tecnologia ampliando mercados. Rondonópolis, 2001. 238 p. (Fundação MT. Boletim, 4).

GAHOONIA, T. S. Influence of root-induced pH on the solubility of soil aluminium in the rhizosphere. **Plant Soil**, Dordrecht, v. 149, p. 289-291, 1993.

GHIBERTO, P. J.; et al. Leaching of nutrients from a sugarcane growing on an Ultisol in Brazil. **Agricultural Water Manegement**, Berlin, v. 96, p. 1443-1448, 2009.

GINE, M. F. et al. Simultaneous determination of nitrate and nitrite by flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 114, p. 191-197, 1980.

HAUCK, R. D.; BREMNER, J. M. Use of tracers for soil and fertilizer nitrogen research. **Advances in Agronomy**, New York, v. 28, p. 219-266, 1976.

HOFMAN, G.; CLEEMPUT O. **Soil and plant nitrogen**. Paris: International Fertilizer Industry Association, 2004.

HOGAN, M. E.; SWIFT, I. E.; DONE, J. Urease assay and ammonia release from leaf tissues. **Phytochemistry**, Oxford, v. 22, p. 663-667, 1983.

HUA, L. I. et al. Effect of nitrification inhibitor DMPP on nitrogen leaching, nitrifying organisms, and enzyme activities in a rice-oilseed rape cropping system. **Journal of Environmental Sciences**, Beijing, v. 20, p. 149-155, 2008.

IPINMOROTI, R. R.; WATANABE, T.; ITO, O. Effect of *Brachiaria humidicola* root exudates, rhizosphere soils, moisture and temperature regimes on nitrification in two volcanic ash soils of Japan. **World Journal of Agricultural Sciences**, Cairo, v. 4, n. 1, p. 106-113, 2008.

IRIGOYEN, I. et al. Ammonium oxidation kinetics in the presence of nitrification inhibitors DCD and DMPP at various temperatures. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 41, n. 6, p.1177-1183, 2003.

JENKINSON, D. S.; FOX, R. H.; RAYNER, J. H. Interactions between fertilizer nitrogen and soil nitrogen: the so-called 'priming' effect. **Journal of Soil Science**, Oxford, v. 36, n. 3, p. 425- 444, 1985.

JIA, Z.; CONRAD, R. Bacteria rather than *Archaea* dominate microbial ammonia oxidation in an agricultural soil. **Environmental Microbiology**, Bedford, v. 11, n. 7, p. 1658-1671, 2009.

KLEINEIDAM, K. et al. Influence of the nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) on ammonia-oxidizing bacteria and archaea in rhizosphere and bulk soil. **Chemosphere**, Amsterdam, v. 84, n. 1, p. 182-186, 2011.

KRUG, F. J.; HANSEN, E. H.; RUZICKA, J. Determination of ammonia in low concentrations with Nessler's reagent by flow injection analysis. **Analyst**, London, v. 104, p. 47-54, 1979.

LANA, R. M. Q. et al. Aplicação de fertilizantes com inibidor de nitrificação e micronutrientes, na cultura do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 7, n. 2, p. 141-151, 2008.

LEININGER, S. et al. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils. **Nature**, London, v. 442, p. 806-809, 2006.

LINZMEIER, W.; GUTSER, R.; SCHMIDHALTER, U. Nitrous oxide emission from soil and from a nitrogen-15-labelled fertiliser with the new nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP). **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 34, p. 103–108, 2001.

MACADAM, X. M. B. et al. Dicyandiamide and 3,4-dimethylpyrazole phosphate decrease N₂O emissions from grassland but dicyandiamide produces deleterious effects on clover. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 160, p. 1517-1523, 2003.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1980. 251 p.

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

MARCELINO, R. **Inibidor de nitrificação em fertilizantes nitrogenados e rendimento de milho**, 2009, 98 p. Dissertação (Mestrado) – Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, 2009.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. New York: Academic Press, 1995. 889 p.

MARSH, K. J.; SIMS, G. K.; MULVANEY, R. L. Availability of urea to autotrophic ammonia-oxidizing bacteria as related to the fate of ¹⁴C-¹⁵N-labeled urea added to soil. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 42, p. 137-145, 2005.

McCARTY, G. W. Modes of action of nitrification inhibitors. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 29, n. 1, p. 1-9, 1999.

McCARTY, G. W.; BREMNER, J. M. Laboratory evaluation of dicyandiamide as a soil nitrification inhibitor. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 20, n. 19-20, p. 2049-2065, 1989.

McCULLOUGH, H. The determination of ammonia in whole blood, by a direct colorimetric method. Nitrogen determination-Berthelot. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 17, p. 297-304, 1967.

MENDIBURU, F. **Practical manual**. International Potato Center. Lima, 2012
Disponível em: <<http://tarwi.lamolina.edu.pe/~fmendiburu/>>. Acesso em: 4 fev. 2012.

MENÉNDEZ, S. et al. 3,4-Dimethylpyrazole phosphate effect on nitrous oxide, nitric oxide, ammonia, and carbon dioxide emissions from grasslands. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 35, p. 973-981, 2006.

MENGEL K., KIRKBY E.A., **Principles of plant nutrition**. 5 ed. Dordrecht: Kluwer, 2001. 864 p.

MERINO, P. et al. 3,4-dimethylpyrazole phosphate reduces nitrous oxide emissions from grassland after slurry application. **Soil Use and Management**, London, v. 21, p. 53-57, 2005.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2006. 729 p.

MOSIER, A. Soil processes and global change. **Biology and Fertility of Soils**. Berlin, v. 27, p. 221-229, 1998.

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

OLIVEIRA, F. C. et al. Lixiviação de nitrato em um Latossolo Amarelo distrófico tratado com lodo de esgoto e cultivado com cana-de-açúcar. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 1, p. 171-180, 2001.

OLIVEIRA, M. W. et al. Leaching of nitrogen, potassium, calcium and magnesium in a sandy soil cultivated with sugarcane. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 6, p. 861-868, 2002.

PASDA, G.; HAHNDEL, R.; ZERULLA, W. Effect of fertilizers with the new nitrification inhibitor DMPP (3,4 – Dimethylpyrazole Phosphate) on yield and quality of agricultural and horticultural crops. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 34, n. 2, p. 85-97, 2001.

POLLETO, N. **Absorção e assimilação dos íons amônio nitrato e os seus efeito sobre a crescimento e desenvolvimento de cevada e arroz em solução nutritiva.** 2008, 168 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

PRASAD, R.; POWER, J. Nitrification inhibitors for agriculture, health and the environment. **Advances in Agronomy**, New York, v. 54, p. 233-281, 1995.

QUIÑONES, A. Improvement of N fertilization by using the nitrification inhibitor DMPP in drip-irrigated citrus trees. **Spanish Journal of Agricultural Research**, Valencia, v. 7, n.1, p. 190-199, 2009.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing.** Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2011. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 4 fev. 2011.

RAHMATULLAH, M. et al. Phosphate availability from phosphate rock as related to nitrogen form and the nitrification inhibitor DMPP. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, London, v. 169, p. 675-678, 2006.

RECOUS, S.; MARY, B. Microbial immobilization of ammonium and nitrate in cultivated soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 22, n.7, p. 913-922, 1990.

REIS, M. G. F.; BARROS, N. F. Ciclagem de nutrientes em plantios de eucalipto. In: BARROS, N. F.; NOVAIS, R. F. **Relação solo-eucalipto.** Viçosa: Folha de Viçosa, 1990. p. 265-301.

RICE, C. W.; TIEDJE, J. M. Regulation of nitrate assimilation by ammonium in soils and in isolated soil microorganisms. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 21, n. 4, p. 597-602, 1989.

ROCHESTER, I. J.; CONSTABLE, G. A.; MACLEOD, D. A. Preferential Nitrate Immobilization in Alkaline Soils. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 30, p. 737-749, 1992.

ROCHESTER, I. J.; CONSTABLE, G. A.; SAFFIGNA, P. G. Effective nitrification inhibitors may improve nitrogen and fertiliser recovery in irrigated cotton. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 23, p. 1-6, 1996.

ROCO, M. M.; BLU, R. O. Evaluation of the nitrification inhibitor 3,4-Dimethylpyrazole phosphate in two Chilean soils. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 29, p. 521–534, 2006.

ROSOLEM, C. A. . Problemas em nutrição e calagem do algodoeiro. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, p. 10-17, 2001.

ROSOLEM, C. A. Algodoeiro. In: PROCHNOW, L. I.; CASARIN, V.; STIPP, S. R. (Orgs.). **Boas práticas para uso eficiente de fertilizantes**. Piracicaba: International Plant Nutrition Institute, 2010. v. 1, p. 97-135.

ROSOLEM, C. A.; FOLONI, J. S. S.; OLIVEIRA, R. H. Dinâmica do nitrogênio no solo em razão da calagem e adubação nitrogenada, com palha na superfície. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 2, p. 301-309, 2003.

SANTOS, J. H. S. Proporções de nitrato e amônio na nutrição e produção dos capins aruana e marandu. 2003, 92 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

SARAHWAT, K. L. Factor affecting nitrification in soils. **Communications in Soils Science and Plant Analysis**, New York, v. 39, p. 1436-1446, 2008.

SERNA, M. D.; BANULS, J.; QUINONES, A.; PRIMO-MILLO, E.; LEGAZ, F. Evaluation of 3,4-dimethylpyrazole phosphate as a nitrification inhibitor in a Citrus cultivated soil. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 32, p. 41-46, 2000.

SILVA, C. A.; VALE, F. R.; FERNANDES, L. A. Nitrificação em amostras de onze solos de Minas Gerais sob influência da correção da acidez. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 46, n. 267, p. 457-470, 1999.

SILVA, C. A.; VALE, F. R. Disponibilidade de nitrato em solos brasileiros sob efeito da calagem e de fontes e doses de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 12, p. 2461-2471, 2000.

SILVA, F. C. Métodos de análises químicas para avaliação da fertilidade do solo. In: SILVA, F. C. (Ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2 ed. Brasília: Embrapa, 2009. 627 p.

SILVA, N. M.; RAIJ, B. van. Fibrosas. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (Eds.). **Recomendação de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1996. (Boletim Técnico, 100).

SINGH, S. N.; VERMA, A. The potential of nitrification inhibitors to manage the pollution effect of nitrogen fertilizers in agricultural and other soils: a review. **Environmental Practice**, Cambridge, v. 9, n. 4, p. 266-279, 2007.

STEEGE, M.W., STULEN, I.; MARY, B. Nitrogen in the environment. In: GAUDRY-MOROT, J. F.; LEA, P. J. (Eds.). **Plant nitrogen**. Berlin: Springer, 2001.

SUBBARAO, G. V. et al. Scope and strategies for regulation of nitrification in agricultural systems: challenges and opportunities. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 25, p. 302-335, 2006.

THOMPSON, W. R. Fertilization of cotton for yields and quality. In: CIA, E.; FREIRE, E. C.; SANTOS, W. J. **Cultura do algodoeiro**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1999, p. 93-99.

TRENKEL, M. E. Slow- and controlled-release and stabilized fertilizers: an option for enhancing nutrient use efficiency in agriculture. Paris: International Fertilizer Industry Association, 2010. 160 p.

TRIVELIN, P. C. O. et al. Evaluation of a ^{15}N plot design for estimating plant recovery of fertilizer nitrogen applied to sugarcane. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 51, n. 2, p. 226-234, 1994.

VITOUSEK, P. M. The effects of deforestation on air, soil, and water. **Chemosphere**, Amsterdam, v. 84, p. 182-186, 1983.

WEISKE, A. et al. Influence of the nitrification inhibitor 3,4-Dimethylpyrazole Phosphate (DMPP) in comparison to Dicyandiamide (DCD) on nitrous oxide emissions, carbon dioxide fluxes and methane oxidation during 3 years of repeated application in field experiments. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 34, n. 2, p. 109-117, 2001.

WIESLER, F. Comparative assessment of efficacy of various nitrogen fertilisers. **Journal of Crop Production**, New York, v. 1, p. 81-114, 1998.

WINSOR, G. W.; POLLARD, A. G. Carbon-nitrogen relationships in soil. I. The immobilization of nitrogen in the presence of carbon compounds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, New York, v. 7, n. 2, p. 134-141, 1956.

WISSEMEIER, A. H. et al. The new nitrification inhibitor DMPP (Entec®): Comparisons with DCD in model studies and field applications. In: HORST, W. J. et al. (Ed.) **Plant nutrition: food security and sustainability of agro-ecosystems**. Dordrecht: Kluwer, 2001. p. 702-703.

WU, S. et al. Effects of a new nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) on nitrate and potassium leaching in two soils. **Journal of Environmental Sciences**, Beijing, v. 19, p. 841-847, 2006.

YU, Q. et al. Influence of the DMPP (3,4-dimethylpyrazole phosphate) on nitrogen transformation and leaching in multi-layer soil columns. **Chemosphere**, Amsterdam, v. 69, p. 825-831, 2007.

ZHAO, X.; XING, G. Variation in the relationship between nitrification and acidification of subtropical soils as affected by the addition of urea and ammonium sulfate. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 41, p. 2584-2587, 2009.

ZERULLA, W.; BARTH, T.; DRESSEL, J.; ERHARDT, K.; von LOCQUENGIEN, K. H.; PASDA, G.; RADLE, M.; WISSEMEIER, A. H. 3,4 – Dimethylpyrazole Phosphate (DMPP): a new nitrification inhibitor for agriculture and horticulture; an introduction. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 34, n. 2, p. 79-84, 2001.