

Projeto: *Avaliação da eficiência de uso de nitrogênio por genótipos de cana-de-açúcar cultivados em condições controladas e avaliação da preferência de absorção de fontes de N (amônio e nitrato) por variedades de cana-de-açúcar contrastantes em NUE*

Responsável: *Dr. Henrique C. Junqueira Franco*

Laboratório Nacional de Tecnologia do Bioetanol – CTBE/CNPEM

O uso ineficiente do nitrogênio (N) proveniente de fertilizantes é um problema global que ameaça a sustentabilidade da produção de cana-de-açúcar. O aumento na eficiência de uso de N (NUE) por cultivares de cana-de-açúcar, associados com melhores práticas agrícolas de manejo de fertilizantes nitrogenados e métodos de diagnose do estado nutricional da cultura, tem grande potencial para reduzir os impactos ambientais. No Brasil a cana-de-açúcar tem sido cultivada como se o mesmo genótipo fosse plantado em todas as situações de manejo e disponibilidade de N, sendo as doses desse nutriente baseadas em produtividade esperada. Contudo, será que a exigência nutricional da cultura é a mesma para todas as variedades atualmente cultivadas em nosso país?

Para responder essa questão propomos avaliar a eficiência de uso de N pelas principais variedades de cana-de-açúcar cultivadas no Brasil. No total, 40 variedades de cana-de-açúcar serão cultivadas em vasos com capacidade de 10 dm³ preenchidos com terra proveniente da camada arável de um Neossolo Quartzarênico. Os toletes de cada variedade serão germinadas em bandejas com substrato por 4 semanas, na presença de solução nutritiva sem N. Ao término deste período, uma planta será transferida definitivamente para vaso plástico. Após 1 semana do estabelecimento das plântulas, será iniciado o fornecimento das soluções nutritivas com diferentes doses de N que será fornecido na forma de NH₄NO₃ nas concentrações: 0,5mM (baixo); 3,0mM (médio) e 9,0mM (alto). O experimento será desenvolvido em delineamento de blocos ao acaso, em fatorial 40 x 3 (sendo 40 variedades e 3 doses de N) com 3 repetições por tratamento. Devido ao número de parcelas (vasos) a ser instalada, o experimento será dividido em duas etapas, sendo cultivada em cada uma delas 20 variedades por vez.

Semanalmente os parâmetros biométricos das plantas serão avaliados, sendo analisados a altura das plantas, o diâmetro, o número de folhas verdes, área foliar, perfilhamento e teor de clorofila para diagnóstico nutricional de N, usando aparelho clorofilometro (Minolta SPAD-502), sendo a leitura realizada no terço médio das folhas +1 (Dewlap)¹. Medidas Pontuais da taxa máxima de fotossíntese serão realizadas na folha +1, entre as 10:00h e 14:00h, utilizando um medidor portátil de fotossíntese (Li-Cor, modelo LI 6400 XT, USA).

Decorridos oito semanas do início do fornecimento de N será realizada a avaliação final do desempenho das plantas. Para isso, as plantas de cada vaso serão separadas em folhas verdes, caules, folhas secas, raízes e rizoma (colmo semente). Após a avaliação da massa fresca, as amostras serão secas em estufa de circulação forçada de ar a 65°C até atingirem massa constante, para então serem moídas em moinho de facas tipo Wiley. Em seguida será determinado o teor de N e NO₃ de acordo com metodologia apresentada em Malavolta et al. (1997).

A avaliação da eficiência de uso do N (NUE g/g) será calculada baseada na unidade de massa seca de planta produzida por repetição (g vaso⁻¹) em função da quantidade de N acumulada (parte área e raízes em g vaso⁻¹).

Após a avaliação dos dados das 40 variedades de cana-de-açúcar submetidas a doses de N, pretende-se escolher 2 variedades de baixa eficiência, 2 de médias e 2 altamente eficientes na utilização de N para serem submetidas a doses de N-NH₄NO₃ (0,5; 3,0 e 9,0 mM) com marcação do ¹⁵N no ¹⁵NO₃ ou no ¹⁵NH₄ (tratamento espelho). O objetivo desse experimento é verificar se realmente há preferência por absorção de NH₄ em detrimento ao NO₃ pela cana-de-açúcar quando a concentração de N na solução do solo é elevada, como verificado em genótipos Australianos (Robinson et al., 2011). O experimento será desenvolvido em delineamento em blocos ao acaso, sendo os tratamentos 6 variedades de cana-de-açúcar submetidas a 3 doses de N. Como os

¹A primeira folha apical (lâmina foliar com bainha visível) completamente expandida.

tratamentos terão dupla marcação isotópica, será utilizado 6 repetições por tratamento (3 para aplicação de $^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3$ e 3 para aplicação de $\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$).

O desenvolvimento do trabalho vai ser o mesmo adotado na etapa anterior. O fornecimento das soluções de nitrato de amônio com marcação isotópica ocorrerá após 8 semanas do transplante das plântulas de cana para os vasos.

Semanalmente os parâmetros biométricos, trocas gasosas serão executadas conforme descrito anteriormente. Serão determinadas curvas de resposta a luz (AxPPFD) e de resposta ao CO_2 (AxCi), com medição simultânea de fluorescência da clorofila *a* com o uso de um medidor portátil de fotossíntese (Li-Cor, modelo LI 6400 XT, USA) acoplado a uma câmara de fluorescência (Li-Cor, modelo LI 6400 XT, USA). Os parâmetros derivados das curvas de luz serão obtidos a partir da equação da hipérbole não retangular, como descrito por Long & Hällgren (1993) e os parâmetros derivados da curva de CO_2 serão obtidos de acordo com Dohleman & Long (2009). Os parâmetros de fluorescência serão calculados de acordo com Genty et al. (1989), seguindo a nomenclatura proposta por Baker & Oxborough (2004).

Para avaliar a preferência de absorção de fontes de N pela cultura será empregada a mesma metodologia utilizada por Robinson et al. (2011), em que as soluções de N enriquecidas em 10% (átomos de ^{15}N) serão adicionadas aos vasos 2 horas antes da colheita das plantas. Assim, após esse intervalo, as plantas serão colhidas e separadas em parte aéreas e raízes. Essa metodologia permite a avaliação da absorção de N na forma de NH_4 ou NO_3 , pois o ^{15}N recuperado nas partes da planta será derivado diretamente da absorção iônica da fonte marcada, não havendo transformações bioquímicas do nitrogênio na solução do solo dentro desse período.

Em seguida, ambas as partes das plantas (raízes e parte aérea) serão pesadas, e subamostradas para determinação da umidade a ser realizada em estufa de circulação forçada de ar a 65°C . Posteriormente parte dessa amostra será moída e submetida à análise isotópica (% átomos de ^{15}N) e de N total (%) em espectrômetro de massas conforme metodologia descrita por Barrier & Prosser (1996), a ser realizada no Laboratório de Isótopos Estáveis do CENA-USP sob responsabilidade do Dr. Paulo C. O. Trivelin.

Durante todas as etapas descritas neste plano de trabalho, o bolsista ficará responsável pelo estabelecimento e cuidado das plântulas de todos os genótipos de cana de açúcar, auxiliará na execução dos experimentos e participará das coletas e processamento de amostras para as diferentes técnicas que serão adotadas. Será também responsável pela avaliação semanal dos parâmetros biométricos e auxiliará na medição de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*. O bolsista será responsável em tabular os dados, analisar resultados e auxiliar na preparação e redação de artigos científicos.

Baker N, Oxborough K (2004) Chlorophyll fluorescence as a probe of photosynthetic productivity. In PG Govindjee, ed, Chlorophyll Fluorescence: A Signature of Photosynthesis. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp 66-82

Barrie A, Prosser S Automated analysis of lightelement stable isotopes by isotope ratio mass spectrometry. (1996). In: Boutton TW, Yamsahi S (eds) Mass spectrometry of soils. Dekker, New York, pp 1–46.

Dohleman, F.G.; Long, S.P. More Productive Than Maize in the Midwest: How Does Miscanthus Do It? Plant Physiology, v.150, p.2104-2115, 2009.

Genty B, Briantais J, Baker N (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochimica et Biophysica Acta **900**: 82-87

Long, S.P.; Hällgren, J.E. Measurements of CO_2 assimilation by plants in the field and laboratory. In: Hall, D.O., Scurlock, J.M.O., Bolhar-Nordenkamp, H.R., Leegood, R.C., Long, 46 S.P. (eds.). Photosynthesis and productivity in a changing environment: a field and laboratory manual. Chapman and Hall, London, pp. 129-167. 1993.

Malavolta, E., Vitti, G.C.; Oliveira, S.A. (1997). Avaliação do estado nutricional de plantas. 2.ed. Piracicaba: Potafos, 319 p.

Robinson, N.; Brackin, R; Soper, K.V.F.; Gamage, J.H.H.; Paungfoo-Lonhienne, C.; Rennenberg, H.; Lakshmanan, P.; Schmidt, S. (2011). Nitrate paradigm does not hold up for sugarcane, PloS One.