

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**

**CRISSOGNO MESQUITA DOS SANTOS**

**MITIGAÇÃO DAS EMISSÕES DE AMÔNIA PROVENIENTE DO  
ENRIQUECIMENTO DO N-UREIA NA VINHAÇA**

**RECIFE**

**2024**

Crissogno Mesquita dos Santos  
Engenheiro Agrônomo

**Mitigação das emissões de amônia proveniente do enriquecimento do N-ureia na  
vinhaça**

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

Orientador:  
Prof. Dr. Emídio Cantídio Almeida de Oliveira

Coorientador:  
Prof. Dr. Felipe José Cury Fracetto

**Recife  
2024**

Autorizo a reprodução e 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  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

S237m dos Santos, Crissogno Mesquita  
Mitigação das emissões de amônia proveniente do enriquecimento do N-ureia na vinhaça /  
Crissogno Mesquitados Santos. - 2024.  
66 f.

Orientador: Emidio Cantidio Almeida de Oliveira. Coorientador:  
Felipe Jose Cury Fracetto.  
Inclui referências, apêndice(s) e anexo(s).

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, , Recife, 2024.

1. Inibidor de urease. 2. Adubação nitrogenada. 3. NBPT. 4. H3BO3. I. Oliveira, Emidio Cantidio Almeida de, orient. II. Fracetto, Felipe Jose Cury, coorient. III. Título

CDD 631.4

---

CRISSOGNO MESQUITA DOS SANTOS

**Mitigação das emissões de amônia proveniente da aplicação de vinhaça enriquecida com N-ureia**

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

Aprovada em 29 de julho de 2024

---

Prof. Dr. Emídio Cantídio Almeida de Oliveira  
Orientador  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Renato Lemos dos Santos  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco

---

Dr. Marcos Ferreira de Mendonça  
Assessor Técnico da Diretoria do Grupo Olho D'Água

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo. À UFRPE e ao programa de pós-graduação em Ciência do Solo pelo acolhimento, ensino de qualidade, aprendizado e oportunidades. Aos docentes, em especial ao professor Dr. Jean Cheyson que tornava cada aula única e excepcional através de sua didática de ensino.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Emídio Cantídio, por todos os ensinamentos, paciência e oportunidades que permitiram a minha evolução profissional. Admiro-o como pessoa e profissional, uma grande referência em fertilidade do solo e nutrição de cana-de-açúcar no Brasil.

À Ubycover, na pessoa da Eng<sup>a</sup> Agrônoma Poliana Freitas pelo fornecimento do fertilizante boro, inibidor de urease (CoverN) e pelo acompanhamento das avaliações experimentais. Sou muito grato pela amizade que construímos!

Ao Instituto Agrônomo de Pernambuco - IPA, na pessoa do Dr. Josimar Fernandes pela disponibilidade do local para realização do experimento e laboratórios para análises.

À Usina São José por ceder sua equipe de trabalho para coleta das amostras de solo, palha e vinhaça. Aos engenheiros agrônomos Cléber e Franciely por toda colaboração durante a pesquisa, pelas rodagens, cafés e almoços que eram sempre prazerosos.

Aos laboratórios da UFRPE (Química do Solo, Química Ambiental, Microbiologia do Solo, Mineralogia e Física do Solo), por cederem o espaço e equipamentos para realizar as análises, com todo apoio das suas equipes.

Ao CETENE, na pessoa da Dr<sup>a</sup> Fabiana por todo o suporte para a realização da análise de urease no tecido vegetal.

Ao CENAPESQ por disponibilizar o ultrafreezer para armazenamento das amostras. Ao Laboratório de Fisiologia de Plantas, na pessoa da Dr<sup>a</sup> Larisse Bianca por disponibilizar o galão criogênio para coleta de amostras.

Ao professor Dr. Felipe Fracetto, meu coorientador, por todo apoio, pelas conversas, ideias e pelo ensinamento de Ecologia Microbiana, disciplina que adorei.

Ao professor Dr. Renato Lemos, presente na minha banca de projeto. Agradeço pelas contribuições científicas durante todo o percurso do mestrado.

Aos funcionários da UFRPE, principalmente Vânia, Jeferson, Rogério, Alves e Nielson pelo suporte no dia a dia e pelas conversas, muitas vezes um bate papo nas madrugadas de serviço. Ao pessoal da horta, nas pessoas de Fabian, Davi e Batistinha pela ajuda com materiais e equipamentos.

Ao GNAF, grupo de pesquisa e extensão ao qual faço parte, agradeço por toda parceria durante esses mais de 2 anos. Foram intensos, mas gratificantes!

Aos meus amigos Flávio, Gabriela e João pela convivência do dia a dia, pelas diversões, conversas e por me ajudarem sempre que precisei, construímos boas histórias!

Ao meu amigo Guilherme por me compreender tão bem. Foram bons momentos desde conversas um tanto utópicas ou distópicas até simplicidades do dia a dia.

À minha irmã do coração e parceira de pesquisa Larissa Batista por todo o suporte, pela organização, dedicação, curiosidade e proatividade na condução do projeto. Você é um diferencial na sua área! Os dias foram bem mais felizes com você!

Aos meus amigos Luiz, Joel e Amanda por toda a contribuição científica, admiro-os muito e minha evolução profissional se deve principalmente a vocês. Grato pelas discussões noturnas e os momentos de diversão também.

Aos meus amigos Clarissa, Gabriel, Arielena, Júnior, Jackelyne, Paulo, Luara e Fabiano pela ajuda intelectual e operacional na condução do projeto de pesquisa e pelas boas conversas ao longo do percurso.

À minha família, meu alicerce, minha principal motivação de contínua evolução pessoal e profissional. Amo vocês!

Enfim, a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para o meu crescimento profissional e realização deste trabalho!

Obrigado!

## Mitigação das emissões de amônia proveniente da aplicação de vinhaça enriquecida com N-ureia

### RESUMO

O etanol de cana-de-açúcar é uma fonte alternativa de combustível renovável com balanço energético superior ao de outras culturas, contudo, sua produção gera grande volume de vinhaça que requer um manejo apropriado. A aplicação de vinhaça pode favorecer as características biológicas do solo, principalmente a atividade de enzimas relacionadas a ciclagem de carbono (C) e enxofre (S), devido ao seu alto teor de matéria orgânica. Além disso, pode ser uma alternativa de substituição parcial ou total de fertilizantes minerais, ou um veículo para adubação nitrogenada. O nitrogênio (N) adicionado à vinhaça consiste na técnica de enriquecimento que favorece a distribuição do fertilizante. Há evidências de que a associação da vinhaça com fertilizante N-ureia é capaz de reduzir as emissões de amônia (NH<sub>3</sub>) para a atmosfera, entretanto, possíveis perdas ainda podem ser significativas. Com isso, o uso de compostos inibidores do processo de hidrólise de ureia tem potencial de reduzir as perdas de NH<sub>3</sub>. Contudo, não há estudos com uso de inibidores de urease (IU) em vinhaça enriquecida, assim como, efeito em curto prazo na atividade biológica, após a adição de vinhaça enriquecida com ureia e inibidores de urease. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar a eficiência dos inibidores de urease na redução das emissões de NH<sub>3</sub> provenientes da aplicação de vinhaça enriquecida com N-ureia e o potencial do sistema de manejo no aumento da atividade da  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase. O estudo foi conduzido sob condições controladas de casa-de-vegetação, cujo delineamento experimental seguiu o modelo de blocos casualizados. Os tratamentos foram: 1) Controle; 2) Ureia - UR; 3) Vinhaça + Ureia - V + UR; 4) V + UR + NBPT e 5) V + UR + H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>. A volatilização de amônia observada com a aplicação de ureia sólida foi de 12,55% do N aplicado, estimulada pela alta atividade de urease na presença da palha e retenção de N-ureia. A adição de ureia à vinhaça foi eficiente em reduzir as perdas de NH<sub>3</sub> de 1,83% do N aplicado. Os inibidores de urease (NBPT e H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) não foram eficientes na redução da volatilização de NH<sub>3</sub> quando comparados com a aplicação de V + UR. A adição de vinhaça enriquecida com ureia (com ou sem IU) aumentou a atividade de  $\beta$ -glicosidase, mas não alterou a atividade da arilsulfatase. Neste sentido, a mistura da V com UR pode ser considerada uma estratégia vantajosa para reduzir a volatilização de NH<sub>3</sub> e aumentar atividade de enzimas relacionadas a ciclagem de C em solos cultivados com cana-de-açúcar na região nordeste do Brasil. Contudo, a adição de IU não trouxe benefícios adicionais a este sistema de manejo.

Palavras-chave: Inibidor de urease. Adubação nitrogenada. NBPT. H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>.  $\beta$ -glicosidase. Arilsulfatase.

## Mitigation of ammonia emissions after N-urea enriched vinasse application

### ABSTRACT

Sugarcane ethanol is an alternative renewable fuel source with a higher energy balance than other crops, but its production generates a large volume of vinasse that requires appropriate management. The application of vinasse can favor the biological characteristics of the soil, mainly the activity of enzymes related to carbon (C) and sulfur (S) cycling due to its high organic matter content. Furthermore, it can be an alternative for partial or total replacement of mineral fertilizers, or a vehicle for nitrogen fertilizer. Nitrogen (N) added to vinasse consists of the enrichment technique that favors fertilizer distribution. There is evidence that the association of vinasse with N-urea fertilizer reduces ammonia ( $\text{NH}_3$ ) emissions into the atmosphere, but losses can still be significant. The use of compounds that inhibit the urea hydrolysis process has the potential to reduce  $\text{NH}_3$  losses. However, there are no studies using urease inhibitors (UI) in enriched vinasse, as well as the short-term effect on biological activity after adding vinasse enriched with urea and urease inhibitors. Therefore, the present study aims to evaluate the efficiency of urease inhibitors in reducing  $\text{NH}_3$  emissions from the application of vinasse enriched with N-urea and the potential of management in increasing the activity of  $\beta$ -glucosidase and arylsulphatase. The study was conducted in the Northeast region of Brazil under controlled greenhouse conditions. The experimental design followed the randomized block model. The treatments were: 1) Control; 2) Urea - UR; 3) Vinasse + Urea - V + UR; 4) V + UR + NBPT and 5) V + UR +  $\text{H}_3\text{BO}_3$ . The ammonia volatilization observed with the use of solid urea was 12.55% of the applied N, stimulated by the high urease activity in the straw and urea-N retention in the straw. The addition of urea to vinasse was efficient in reducing  $\text{NH}_3$  losses and presented losses of 1.83% of the applied N. Urease inhibitors (NBPT and  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) were not efficient in reducing  $\text{NH}_3$  volatilization when compared to the application of V + UR. The addition of urea-enriched vinasse (with or without IU) increased  $\beta$ -glucosidase activity but did not alter arylsulphatase activity. In this sense, mixing V with UR can be considered an advantageous strategy to reduce  $\text{NH}_3$  volatilization and increase the activity of enzymes related to C cycling in soils cultivated with sugar cane in northeastern Brazil. However, the addition of UI did not bring additional benefits from this management system.

Keywords: Urease inhibitor. Nitrogen fertilizer. NBPT.  $\text{H}_3\text{BO}_3$ .  $\beta$ -glucosidase. Arylsulphatase.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Distribuição das parcelas experimentais (A) e câmaras de coleta instaladas após aplicação dos tratamentos (B).....	23
<b>Figura 2</b> - Representação das câmaras estáticas semiabertas (adaptado de ALVES et al., 2011). .....	26
<b>Figura 3</b> - Aplicação de vinhaça enriquecida com N-ureia (A) e aplicação de ureia sólida (B). .....	27
<b>Figura 4</b> – Atividade da enzima urease no solo (A) e na palha da cana-de-açúcar (B) em relação a aplicação de vinhaça enriquecida com N e inibidores de urease. ....	33
<b>Figura 5</b> – Teor de $N-NH_4^+$ (A) e $N-NO_3^-$ (B) no solo em relação a aplicação de vinhaça enriquecida com N e inibidores de urease. ....	35
<b>Figura 6</b> – Acidez ativa do solo (pH) em relação a aplicação de ureia, vinhaça enriquecida com N-ureia e inibidores de urease.....	37
<b>Figura 7</b> – Teor de N na palha de cana-de-açúcar, em relação a aplicação de ureia, vinhaça enriquecida com N-ureia e inibidores de urease. ....	38
<b>Figura 8</b> – Perdas diárias (A) e acumuladas (B) de $N-NH_3$ por volatilização de 0 a 32 dias após a fertilização (DAF), em relação a aplicação de ureia, vinhaça enriquecida com N-ureia e inibidores de urease.....	40
<b>Figura 9</b> – Atividade das enzimas $\beta$ -glicosidase (A) e arilsulfatase (B) em solo arenoso 40 dias após fertilização (DAF).....	42

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Caracterização química e física do solo utilizado no experimento realizado em casa de vegetação. ....	24
<b>Tabela 2</b> - Caracterização da vinhaça utilizada no estudo. ....	25
<b>Tabela 3</b> - Parâmetros do modelo linear ajustado para a concentração de N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> no solo. ...	36
<b>Tabela 4</b> - Parâmetros do modelo não-linear (modelo de sino) ajustado para o valor de pH do solo. ....	38
<b>Tabela 5</b> - Parâmetros do modelo não-linear (modelo de sino) ajustado para as perdas diárias de N-NH <sub>3</sub> . ....	41
<b>Tabela 6</b> - Parâmetros do modelo não-linear (modelo sigmoidal) ajustado para as perdas acumuladas de N-NH <sub>3</sub> . ....	41

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	12
1.1	Hipóteses .....	14
1.2	Objetivos .....	14
1.2.1	<i>Objetivo Geral</i> .....	14
1.2.2	<i>Objetivos Específicos</i> .....	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	15
2.1	Importância agrícola e ambiental da cana-de-açúcar .....	15
2.2	Uso da vinhaça no aporte de nutrientes e água para produção de cana-de-açúcar..	16
2.3	Vinhaça enriquecida com N para manejo mais eficiente nos canaviais .....	17
2.4	Perdas de N-ureia em sistemas de vinhaça enriquecida com nitrogênio .....	18
2.5	Estratégias para mitigar as emissões de NH <sub>3</sub> da vinhaça enriquecida com ureia ....	19
2.6	Modificações da biologia do solo com uso de vinhaça enriquecida com fertilizante N mineral.....	21
3	MATERIAL E MÉTODOS .....	23
3.1	Descrição e condução da área experimental.....	23
3.2	Quantificação da volatilização do N-fertilizante.....	26
3.3	Coleta de dados e determinação das variáveis avaliadas .....	27
3.3.1	<i>Quantificação das perdas de N-NH<sub>3</sub></i> .....	27
3.3.2	<i>Análise do solo</i> .....	28
3.3.3	<i>Atividade enzimática</i> .....	28
3.3.4	<i>Análise da palha de cana-de-açúcar</i> .....	29
3.4	Análise estatística .....	29
4	RESULTADOS.....	32
4.1	Atividade da enzima urease no solo .....	32
4.2	Atividade da enzima urease na palha .....	33
4.3	N mineral no solo .....	34
4.4	pH do solo .....	37

4.5 N total na palha .....	38
4.6 Perdas de N-NH <sub>3</sub> .....	39
4.7 Atividade biológica do solo .....	42
5 DISCUSSÃO.....	43
5.1 Atividade da enzima urease no solo .....	43
5.2 Atividade da enzima urease na palha.....	45
5.3 N mineral no solo.....	46
5.4 pH do solo.....	48
5.5 N total na palha .....	49
5.6 Perdas de N-NH <sub>3</sub> .....	50
5.7 Atividade biológica do solo .....	52
6 CONCLUSÕES.....	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	54
APÊNDICE A – TEMPERATURA DA VINHAÇA NO MOMENTO DA COLETA.....	65
APÊNDICE B – BASE DA CÂMARA DE COLETA DE NH <sub>3</sub> INSERIDA A 3 CM DE PROFUNDIDADE NO SOLO.....	65
ANEXO A – UMIDADE DO SOLO REFERENTE AO PERÍODO DE CONDUÇÃO EXPERIMENTAL. ....	66

## 1 INTRODUÇÃO

A crescente demanda por fontes de energia sustentáveis em substituição ao uso de combustíveis fósseis, sustentada por políticas governamentais como o RenovaBio que visa expandir a produção de biocombustíveis, tem impulsionado a produção de cana-de-açúcar, devido ao seu balanço energético superior ao de outras culturas, tendo importante contribuição na redução das emissões de gases do efeito estufa.

A produção de cana-de-açúcar é dependente do fornecimento de água, luz e nutrientes adequadamente. Nesse sentido, a fertilização mineral e/ou orgânica da cultura em ambientes pobres em nutrientes como as condições dos solos tropicais brasileiros torna-se essencial para manutenção e/ou aumento da produtividade.

No cenário agrícola de produção de cana-de-açúcar, o Brasil tem grande destaque mundial por seu grande volume de biomassa produzida, o que demanda um alto consumo de fertilizantes minerais. No entanto, a baixa eficiência de utilização desses fertilizantes, gera preocupação para o setor, principalmente devido ao cenário instável com guerras, finitude das fontes minerais e impacto ambiental na produção de alguns fertilizantes.

Dentre os nutrientes, o N é o elemento que gera maiores preocupações em seu fornecimento por consequência de sua dinâmica complexa no solo e sua alta demanda para o desenvolvimento da cultura. A maior parte do fertilizante nitrogenado aplicado pode ser perdido por imobilização microbiana, lixiviação, volatilização e desnitrificação, levando a uma baixa recuperação do N-fertilizante pelas plantas. As perdas de N, principalmente via volatilização de  $\text{NH}_3$  tem sido exaustivamente estudada e se destaca pelo potencial de emitir para a atmosfera até 50% do N aplicado. A eficácia da adubação nitrogenada é afetada pela forma de aplicação (sulco ou à lanço) e fonte utilizada (ureia, sulfato de amônio, nitrato de amônio, monofosfato de amônio).

Na adubação convencional, comumente utilizava-se o fertilizante ureia como fonte de N devido ao seu baixo custo por unidade de N. Contudo, a ureia ao ser aplicada ao solo sofre reação de hidrólise que é catalisada pela enzima urease que converte a forma amídica de ureia em amoniacal ( $\text{NH}_3$ ) que é volátil e rapidamente é perdida para a atmosfera. Além disso, a colheita de cana crua, sem queima, intensificou a suscetibilidade a perdas devido a elevada presença de urease na superfície da palha de cana-de-açúcar. Assim, a principal estratégia adotada foi a utilização de outras fontes nitrogenadas com menor suscetibilidade a volatilização. Contudo, isto elevou os custos de produção. As perdas de N e o alto custo das fontes utilizadas

diminuem o rendimento financeiro dos canaviais e podem gerar problemas ambientais, comprometendo a sustentabilidade da produção.

O uso de resíduos orgânicos gerados na industrialização da cana-de-açúcar tem se mostrado uma excelente alternativa na substituição parcial ou total da adubação mineral, o que reduz os custos de produção e gera menor impacto ambiental. Dentre os resíduos gerados, se destaca a vinhaça pelo seu alto volume gerado e sua riqueza em K e material orgânico, além de poder ser utilizada para o fornecimento de água para a cultura.

O caráter ácido da vinhaça aplicada aos canaviais, assim como sua forma de aplicação líquida tem permitido o enriquecimento dessa “calda” com fertilizantes nitrogenados, como a ureia e a adição de outros nutrientes. O uso da vinhaça enriquecida com nutrientes minerais, sendo fornecida de forma localizada, reduz os custos operacionais relativos ao descarte desse resíduo, viabilizando o seu transporte a distâncias maiores para sua aplicação aos canaviais. No entanto, o conhecimento das diversas interações que ocorrem entre a combinação desse resíduo orgânico e dos nutrientes minerais adicionados ainda é pouco conhecida, sobretudo do enriquecimento da vinhaça com fertilizante N mineral, prática comum adotada nos canaviais.

A adição de compostos orgânicos ao solo modifica as características físicas, químicas e biológicas do solo. A saúde biológica do solo é um tema em alta no cenário atual. Diversas enzimas relacionadas a ciclagem de nutrientes têm sido estudadas. A Embrapa lançou em 2020 o programa BioAS que consiste na avaliação de duas enzimas,  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase, associadas ao ciclo de carbono e enxofre, respectivamente, que apresentam alta correlação com a qualidade biológica do solo.

A associação da vinhaça com fertilizante N-ureia pode alterar a diversidade microbiológica do solo e afetar a atividade de enzimas relacionadas ao ciclo de carbono e enxofre pela alta presença destes elementos em sua composição. Além disso, o uso de vinhaça enriquecida pode atenuar as perdas de amônia ( $\text{NH}_3$ ) para a atmosfera, contudo, estas perdas ainda podem ser elevadas. Assim, a adoção de novas estratégias como o uso de inibidores de urease, NBPT e  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , capazes de inibir parcialmente a atividade de urease e reduzir as perdas de  $\text{NH}_3$  podem contribuir para a permanência do N-fertilizante no solo. A eficácia dos inibidores de urease, principalmente o NBPT, é amplamente conhecida. Entretanto, estudos com uso de inibidores de urease associados à ureia e vinhaça são escassos.

Dessa maneira, é importante compreender os efeitos da aplicação de vinhaça enriquecida com ureia na atividade de  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase, duas importantes enzimas relacionadas a saúde do solo e nas perdas de  $\text{NH}_3$  para atmosfera. Assim como, estudar a eficácia dos

inibidores de urease na inibição parcial da enzima urease e conseqüentemente na redução das perdas de N via volatilização.

## 1.1 Hipóteses

- Adicionar inibidores de urease na vinhaça *in natura* enriquecida com ureia reduz as perdas  $\text{NH}_3$  para a atmosfera.
- A aplicação de vinhaça *in natura* enriquecida aumenta a atividade de  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase.

## 1.2 Objetivos

### 1.2.1 *Objetivo Geral*

Avaliar a possibilidade dos inibidores de urease em reduzir as emissões de  $\text{NH}_3$  provenientes da aplicação de vinhaça *in natura* enriquecida com N-ureia e o potencial do manejo no aumento da atividade de  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase.

### 1.2.2 *Objetivos Específicos*

- Avaliar os efeitos da adição de NBPT ou  $\text{H}_3\text{BO}_3$  na redução de N via volatilização e na atividade de urease no solo e palha
- Avaliar a dinâmica de N mineral e pH do solo e N total na palha após adição de fertilizantes nitrogenados e vinhaça;
- Avaliar a atividade de  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase após aplicação de vinhaça *in natura* enriquecida com ureia.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Importância agrícola e ambiental da cana-de-açúcar

A crescente demanda pela substituição de combustíveis fósseis e de diminuição das emissões de gases de efeito estufa (GEE) tem impulsionado a produção de biocombustíveis no mercado interno e internacional (DIAS e SENTELHAS, 2018; GASPAROTTO et al., 2022). Nesse sentido, o etanol derivado de cana-de-açúcar se apresenta como a opção mais eficaz, com potencial de reduzir em até 85% as emissões de GEE por meio da substituição de combustíveis fósseis, superando o potencial de redução de culturas como o trigo (64%), sorgo (53%), beterraba (45%) e milho (30%) (BORDONAL et al., 2018). Isso faz da cultura uma aliada para a produção de biocombustíveis no cenário mundial.

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, sendo responsável por cerca de 38% de toda a produção mundial (FAO, 2023). Na safra 2023/2024, a área cultivada de cana-de-açúcar no país foi de 8,33 milhões de hectares, com produção de 713,2 milhões de toneladas e geração de 29,69 bilhões de litros de etanol (CONAB, 2024).

O aumento na produção de etanol de cana-de-açúcar tem se intensificado após a criação da política nacional *RenovaBio*, que visa expandir a produção de biocombustíveis para alcançar as Contribuições Nacionalmente Determinadas (NDC) do Acordo de Paris de 2015, no cumprimento dos compromissos firmados pelo Brasil para alcançar neutralidade climática até 2050 (UNFCCC, 2022). Contudo, a baixa fertilidade natural dos solos brasileiros e a baixa e/ou desuniforme precipitação pluviométrica nas áreas cultivadas limita a produção, principalmente na região Nordeste do Brasil (OLIVEIRA et al., 2010), terceira maior produtora do país (CONAB, 2024).

O uso de fertilizantes minerais e/ou orgânicos para um fornecimento adequado de nutrientes para o desenvolvimento da cultura é uma prática comum nas áreas de produção de cana-de-açúcar em todo o mundo. No entanto, o baixo teor de nutrientes nos solos tropicais brasileiros, aliado à baixa eficiência de uso de fertilizantes causada por fatores como distribuição das chuvas, momento de aplicação, fontes e doses utilizadas, forma de aplicação, dentre outros (BORDONAL et al., 2018; BORGES et al., 2019; OTTO et al., 2021), implica em um alto consumo de fertilizantes minerais para alcançar rendimentos satisfatórios a cada ciclo de produção. A maior parte desses fertilizantes é importada (ANDA, 2022) e representa cerca de 13% dos custos de produção da cana-de-açúcar (CONAB, 2021).

Dentre os fertilizantes utilizados no manejo de adubação da cana-de-açúcar, a fonte N mineral gera grande preocupação por sua baixa eficiência de uso (20-40%) (FRANCO et al.,

2011; OTTO et al., 2021; VIERA-MEGDA et al., 2015). Em uma longa revisão da literatura, Otto et al. (2016) mostraram que 26% do N aplicado aos canaviais é absorvido pelas plantas, 32% imobilizado no solo por microrganismos, e a maior parte do N restante é perdido via volatilização de amônia, emissão de N<sub>2</sub>O (BORGES et al., 2019), escoamento de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (GHIBERTO et al., 2009), ou não contabilizado.

As diferentes condições de umidade no momento da aplicação afetam diretamente a resposta da cana-de-açúcar ao N. As condições de solo seco diminuem a absorção de fertilizantes nitrogenados, reduzindo não apenas a dissolução do fertilizante, mas também a absorção devido à ausência de água e, principalmente, a baixa atividade das raízes em condições de solo seco (OTTO et al., 2021). Outro importante fator que influencia significativamente o rendimento da cultura é a interação entre nutrientes, como é o caso de N e K, evidenciando a importância do balanço nutricional na eficiência de produção de fitomassa (BRITO et al., 2009). A sustentabilidade do sistema de produção canavieiro depende do aumento da eficiência desses recursos, sobretudo no atual cenário de incerteza no mercado de fertilizantes (CRUSCIOL et al., 2020).

## **2.2 Uso da vinhaça no aporte de nutrientes e água para produção de cana-de-açúcar**

O uso de resíduos orgânicos gerados na industrialização da cana-de-açúcar, como torta de filtro e vinhaça, é uma prática realizada nas unidades sucroenergéticas para condicionamento do solo e fornecimento de nutrientes (CRUSCIOL et al., 2020). Entre os resíduos, a vinhaça apresenta maior riqueza de nutrientes e água, além de ser produzida em grande quantidade, aproximadamente 120 vezes superior à produção de torta de filtro (CHERUBIN et al., 2021). Para cada litro de etanol são produzidos de 10 a 15 L de vinhaça (SILVA et al., 2013), sendo estimada a produção de 296,9-445,35 bilhões de litros de vinhaça na safra 2023/2024 (CONAB, 2024). Tais características antes eram consideradas um problema ambiental, e hoje é considerada um subproduto de grande importância para produção de cana-de-açúcar.

A aplicação de vinhaça em canaviais é uma solução de baixo custo de destinação desse subproduto, com diversos benefícios agrônômicos relacionados à qualidade do solo e redução do custo de produção (OLIVEIRA et al., 2015), tais como aumento na retenção de umidade, porosidade, nos níveis de potássio (CHRISTOFOLETTI et al., 2013), aumento nos aportes de C e N no solo (PARNAUDEAU et al., 2008), redução do uso de água doce em sistemas de irrigação plena e diminuição de uma forma geral do uso de fertilizantes nitrogenados ou fosfatados (MUTTON et al., 2014). Tais benefícios resultam no aumento da produtividade e

eficiência do sistema de produção da cana-de-açúcar (RESENDE et al., 2006).

A vinhaça tem o potencial de aportar matéria orgânica (MO) e nutrientes, entre os principais  $0,49 \text{ kg m}^{-3}$  de N,  $0,56 \text{ kg m}^{-3}$  de P,  $2,06 \text{ kg m}^{-3}$  de K,  $0,72 \text{ kg m}^{-3}$  de Ca,  $0,24 \text{ kg m}^{-3}$  de Mg,  $0,71 \text{ kg m}^{-3}$  de S e  $36,90 \text{ kg m}^{-3}$  de matéria orgânica (M.O.) (CHRISTOFOLLETTI et al., 2013; REIS e HU, 2017). No caso do potássio, nutriente presente em maior quantidade, pode haver substituição total da aplicação de fertilizantes minerais com uso da vinhaça. A composição da matéria orgânica é bastante diversificada: açúcares (por exemplo, glicose, sacarose, frutose e galactose), álcoois (especialmente etanol) e ácidos orgânicos, como ácido láctico e acético (CASSMAN et al., 2018), bem como por celulose, hemicelulose e aminoácidos (CARRILHO et al., 2016; FUESS e GARCIA, 2014).

No atual manejo da vinhaça são distribuídos em área total de 300 a  $500 \text{ m}^{-3} \text{ ha}^{-1}$ . Essa lâmina promove a exigência de quantidades elevadas de água, nutrientes e MO (MUTTON et al., 2014). No entanto, ainda é um manejo pouco eficiente quanto a distribuição dos nutrientes e merece ser investigado (CHRISTOFOLLETTI et al., 2013). Além disso, em condições edafoclimáticas específicas, pode haver lixiviação, salinização, e contaminação do solo ou corpos hídricos, o que prejudica a qualidade do solo e ambiental (CHRISTOFOLLETTI et al., 2013).

A lâmina elevada por área direciona a vinhaça para uma área limitada da maioria das unidades produtoras de cana-de-açúcar. São priorizadas áreas de brotação (cana planta ou cana soca), garantindo nutrientes e água para o desenvolvimento inicial da cultura. Principalmente no ciclo de cana soca, que representa cerca 86% da área agrícola (CONAB, 2024).

A aplicação localizada da vinhaça vem sendo cada vez mais utilizada como forma de otimizar o uso dos nutrientes e água, e aumentar a área contemplada com os benefícios do seu uso. Esse manejo viabiliza a combinação de diferentes técnicas, que promovem maior eficiência de uso do subproduto, além de redução dos custos de produção e ganhos de produtividade (OTTO et al., 2017a).

### **2.3 Vinhaça enriquecida com N para manejo mais eficiente nos canaviais**

A vinhaça localizada consiste na aplicação direcionada para a linha da cana. Esse manejo reduz a lâmina aplicada por área, o que possibilita que mais áreas possam ser beneficiadas com a aplicação de vinhaça (CARRILHO et al., 2016). A lâmina aplicada é cerca de 10 vezes menor que o convencional, sendo aplicados de 30 a  $50 \text{ m}^{-3} \text{ ha}^{-1}$ , o que pode fornecer 50%, 20% e 100% da necessidade de N, P, K da cultura, respectivamente, e aportar até  $1,0 \text{ t ha}^{-1}$  de MO no solo

(CHRISTOFOLLETTI et al., 2013). A redução da lâmina minimiza as perdas e danos da aplicação em área total, como lixiviação e contaminação.

Quando aplicada de forma localizada, a vinhaça é utilizada como um fertilizante em sistema de fertirrigação. Na “calda” pode ser adicionado outros fertilizantes minerais, de forma complementar à composição natural da vinhaça, a fim de suprir a carência da composição em relação à demanda da cultura em outros nutrientes, como nitrogênio e micronutrientes (OTTO et al., 2017a). Essa prática reduz uma ou mais operações de adubação, e a aplicação de forma líquida aumenta a eficiência da mistura e da aplicação (GALLUCCI et al., 2019).

Considerando a elevada demanda da cana-de-açúcar por nitrogênio, o enriquecimento da vinhaça com N é o mais comumente adotado. A fonte mais utilizada é a ureia, por apresentar menor custo relativo à outras fontes, e alta solubilidade. O uso de vinhaça localizada e enriquecida com fertilizantes minerais permite um balanceamento adequado do fornecimento de nutrientes à cultura. Lourenço et al., (2019) avaliando tratamentos que receberam aplicação de vinhaça combinada com nitrato de amônio, encontraram incremento no rendimento de colmos de 20 t ha<sup>-1</sup> e 5 t ha<sup>-1</sup> quando comparado a tratamentos não adubados e adubados apenas com fertilizante N mineral, respectivamente. No entanto, por ser a ureia a fonte mais utilizada para o enriquecimento da vinhaça, as perdas por volatilização de amônia também podem ser significativas (OTTO et al., 2017a).

#### **2.4 Perdas de N-ureia em sistemas de vinhaça enriquecida com nitrogênio**

As emissões de NH<sub>3</sub> da ureia aplicada no solo de agroecossistemas reduzem a eficiência do uso de N e podem promover mudanças climáticas (SOARES et al., 2012). Possíveis perdas de N via volatilização de NH<sub>3</sub> podem causar prejuízos econômicos quando a ureia é aplicada em superfície sob condições de clima e solo com sistemas de manejo inadequados. Em um trabalho realizado por Mira et al., (2017), em cinco diferentes áreas de produção de cana-de-açúcar abrangendo solos argilosos e arenosos, as perdas médias de NH<sub>3</sub> foram de 23% do N aplicado.

Após a aplicação da ureia no solo, há uma rápida hidrólise coordenada pela enzima extracelular urease, responsável por converter a forma amídica (R-NH<sub>2</sub>) de compostos orgânicos, em NH<sub>3</sub> (amônia). A amônia é um gás, mas em solução ácida ou levemente ácida, é rapidamente protonado recebendo H<sup>+</sup> da solução. Assim, forma-se NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (amônio), um composto estável e disponível para assimilação pelas plantas (SOARES et al., 2012). O consumo de H<sup>+</sup> durante a hidrólise da ureia para formar NH<sub>4</sub><sup>+</sup> eleva o pH da solução temporariamente e reduz a disponibilidade de H<sup>+</sup> para protonação de NH<sub>3</sub>. A amônia continua

sendo formada e se mantém na forma de gás, que flui para atmosfera no processo de volatilização (GURUNG et al., 2021). A volatilização da amônia pode variar com o pH do solo, capacidade de troca catiônica (CTC), teor de água, teor de argila e matéria orgânica, fonte de N-fertilizante, forma de aplicação (sulco ou superfície) e tipo de manejo do solo (AWALE e CHATTERJEE, 2017).

Nos sistemas de colheita mecanizada, forma predominante no Brasil que corresponde a 92% do modo de colheita atual (CONAB, 2024), espessas camadas de palha permanecem na superfície do solo. A quantidade pode variar de 10 a 20 Mg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> de material seco. O acúmulo de palha no solo contribui com a conservação do solo, a manutenção da umidade do solo e a ciclagem de nutrientes (LEAL et al., 2013; ALMEIDA et al., 2016). Contudo, quando restos como folhas secas, ponteiro e restos de colmo são deixados na superfície do solo, a incorporação de fertilizantes à base de ureia é limitada (VIEIRA-MEGDA et al., 2015). Estudos conduzidos por Pinheiro et al (2018) demonstraram que a cada 4,0 Mg ha<sup>-1</sup> de massa seca deixadas sobre o solo houve incremento nas perdas de NH<sub>3</sub> de 7,1 kg N ha<sup>-1</sup> e 12 kg N ha<sup>-1</sup> nos períodos seco e chuvoso, respectivamente. As perdas de N em áreas com presença de palha são intensificadas pela alta atividade de urease encontrada sobre a superfície dos resíduos vegetais (ROCHETTE et al., 2009).

A diluição da ureia em meio ácido, como o da vinhaça (pH em torno de 4,0) pode reduzir a taxa de perda de N em até 40%, quando comparada ao uso de ureia sozinha aplicada em superfície (OTTO et al., 2017a). A alta concentração e atividade de H<sup>+</sup> na vinhaça permite que a maior proporção de NH<sub>2</sub> da ureia seja convertido a NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, minimizando a perda de gás amônia. Além disso, a forma de aplicação da vinhaça em jatos direcionados favorece a percolação da ureia no perfil do solo, reduzindo a propensão à difusão ascendente do gás NH<sub>3</sub> e aumentando o contato com o H<sup>+</sup> da solução do solo (GURUNG et al., 2021).

Assim, o uso de vinhaça enriquecida com N-ureia tem permitido a redução das perdas de N via volatilização de amônia. No entanto, as perdas de N ainda podem se apresentar elevadas, com perdas acumuladas de até 35% do N aplicado como fertilizante, demonstrando que uma maior eficiência de uso do N ainda pode ser alcançada (OTTO et al., 2017a).

## **2.5 Estratégias para mitigar as emissões de NH<sub>3</sub> da vinhaça enriquecida com ureia**

As emissões de NH<sub>3</sub> a partir da aplicação de ureia são provocadas por condições edafoclimáticas conhecidas. Com o direcionamento do manejo de fontes de N e saturação do solo adequadas, pode-se aumentar o aproveitamento do fertilizante (SUNDERLAGE et al.,

2018). A volatilização de amônia no solo pode ser reduzida significativamente com a substituição da ureia por outras fontes como sulfato de amônio e nitrato de amônio (TI et al., 2019). A incorporação da ureia aplicada via solo também tem se mostrado eficaz na diminuição de perdas de N-NH<sub>3</sub> (ROCHETTE et al., 2013). Contudo, a preferência da ureia em vez do nitrato de amônio ou sulfato de amônio como fonte de N no Brasil é baseada no menor custo por unidade de N e na imposição de regulamentações de transporte de nitrato de amônio devido ao seu potencial uso na fabricação de explosivos. A incorporação de fertilizante no solo sob a palha é uma alternativa, mas é considerada uma prática cara e difícil pelos produtores de cana-de-açúcar (BARTH et al., 2020).

Os estudos relacionados com redução das emissões têm identificado diferentes inibidores dos processos de perda de NH<sub>3</sub>. Esses inibidores podem retardar as reações ou atuar de forma direta sobre a atividade de urease, diminuindo a sua atividade química (MODOLO et al., 2018; RUSER e SCHULZ, 2015). De certa forma, esses inibidores devem ser biodegradáveis e eficientes em doses baixas, uma vez que tem potencial de interferir na atividade microbiana do solo e serão adicionados a cada aplicação de insumo fertilizante (RODRIGUES et al., 2018). Dentre os inibidores de urease disponíveis comercialmente, o N-(n-butyl) thiophosphoric triamide (NBPT) é o que tem sido mais utilizado para reduzir a volatilização de NH<sub>3</sub> e é eficaz mesmo em baixas concentrações (LASISI et al., 2020).

O NBPT bloqueia fortemente três pontos ativos da enzima urease (CANTARELLA et al., 2018), e tem características de solubilidade e difusão, semelhantes à ureia (CARMONA et al., 1990). Ao retardar a hidrólise o inibidor permite a difusão da ureia no solo; assim o inibidor evita alta concentração de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e pH elevado na zona de aplicação do fertilizante e diminui a volatilização de NH<sub>3</sub> (CHRISTIANSON et al., 1993). Em uma meta-análise de 134 estudos realizada por Pan et al., 2016 foi encontrado uma eficiência média de 50% na redução das emissões de NH<sub>3</sub> com a adição de NBPT à ureia.

O ácido bórico também pode inibir a hidrólise da ureia pois atua como substrato análogo (BENINI et al., 2004). O mecanismo de ação do ácido bórico sobre a urease é que ele se ajusta simetricamente entre os dois centros de níquel (sítio ativo da enzima) e apresenta semelhança geométrica com a molécula de ureia (CANTARELLA et al., 2018). Estudo conduzido por Cancellier et al. (2016) demonstraram que o revestimento da ureia com ácido bórico (0,4%) e cobre (0,15%) foi capaz de reduzir a volatilização de NH<sub>3</sub> em 18% quando comparado a aplicação de ureia comum.

No manejo com uso de vinhaça enriquecida com ureia como estratégia de aumento da eficiência de uso dos fertilizantes nitrogenados devem ser avaliados o potencial de emissões de

NH<sub>3</sub> bem como o desempenho de diferentes inibidores de urease, para direcionar a tomada de decisão para o estabelecimento de sistemas de produção sustentáveis. Até onde sabemos, não existem estudos avaliando os efeitos da aplicação de vinhaça enriquecida nas emissões de NH<sub>3</sub> nas condições da região nordeste do Brasil.

## **2.6 Modificações da biologia do solo com uso de vinhaça enriquecida com fertilizante N mineral**

As propriedades físicas e químicas do solo são pouco alteradas à curto prazo com a adição de diferentes fontes de matéria orgânica. Em contraste, as propriedades microbiológicas e bioquímicas são muito responsivas e fornecem informações imediatas e precisas sobre pequenas mudanças que ocorrem no solo (TEJADA et al., 2007). Nos últimos anos o estudo da biologia do solo tornou-se um importante aliado no enfrentamento da agricultura frente às constantes mudanças e adaptação climática (SILVA et al., 2021).

As enzimas são constituintes essenciais dos sistemas biológicos. As atividades enzimáticas no solo são conhecidas por servirem como um indicador da saúde do solo e por mediar e servirem como catalisadores para funções do solo, como decomposição da matéria orgânica, liberação de nutrientes inorgânicos para o crescimento das plantas, fixação de N<sub>2</sub>, desintoxicação de xenobióticos, nitrificação e desnitrificação. (BALIGAR et al., 2005). Portanto, as enzimas do solo funcionam como indicador mais delicado de mudanças nas atividades microbianas (denominadas como “sensores”) que ocorrem no ambiente do solo em resposta a diferentes fatores, incluindo o tipo de manejo (BOGATI e WALCZAK, 2022).

De acordo com Mendes et al. (2019) as enzimas arilsulfatase e  $\beta$ -glicosidase, em conjunto ou separadamente, foram os indicadores que consistentemente apresentaram maior sensibilidade para detectar alterações no solo, em função do sistema de manejo. A enzima  $\beta$ -glicosidase, ao hidrolisar polímeros de resíduos vegetais (ou seja, celobiose e maltose) fornece esqueletos de carbono essenciais e fontes de energia para o crescimento de microrganismos do solo, e inicia processos que levam à mineralização e/ou estabilização de resíduo vegetal C (MONREAL e BERGSTROM, 2000). A resposta da aplicação de diferentes fontes orgânicas na atividade de  $\beta$ -glicosidase é variável. Em uma meta-análise de 44 estudos conduzida por Pokharel et al. (2020) não foi observado efeito na atividade de  $\beta$ -glicosidase após aplicação de biochar. Em contrapartida, Li et al., 2015 encontraram incrementos maiores que 70% com 4 meses após adição de esterco bovino de baixa relação C/N (<10). Yang et al. (2013) encontraram uma menor atividade de  $\beta$ -glicosidase com a adição de vinhaça em comparação

ao uso de torta de filtro e fertilizante mineral (NPK).

A arilsulfatase é uma enzima extracelular amplamente presente no solo (MAURYA et al., 2020). Catalisa a hidrólise de ésteres sulfato aromáticos em fenóis e sulfato e, portanto, podem ser importantes para a mobilização de sulfato inorgânico para nutrição de plantas (ADETUNJI et al., 2020). Em experimento de longa duração conduzido por Holík et al., (2019) foi demonstrado que o manejo com fertilizante mineral NPK afetou negativamente a atividade de arilsulfatase. Tejada et al., (2007) encontraram decréscimo na atividade de arilsulfatase com a adição vinhaça de beterraba. Godlewska (2018) observou incremento de até 96% na atividade de arilsulfatase após adição de lodo de esgoto.

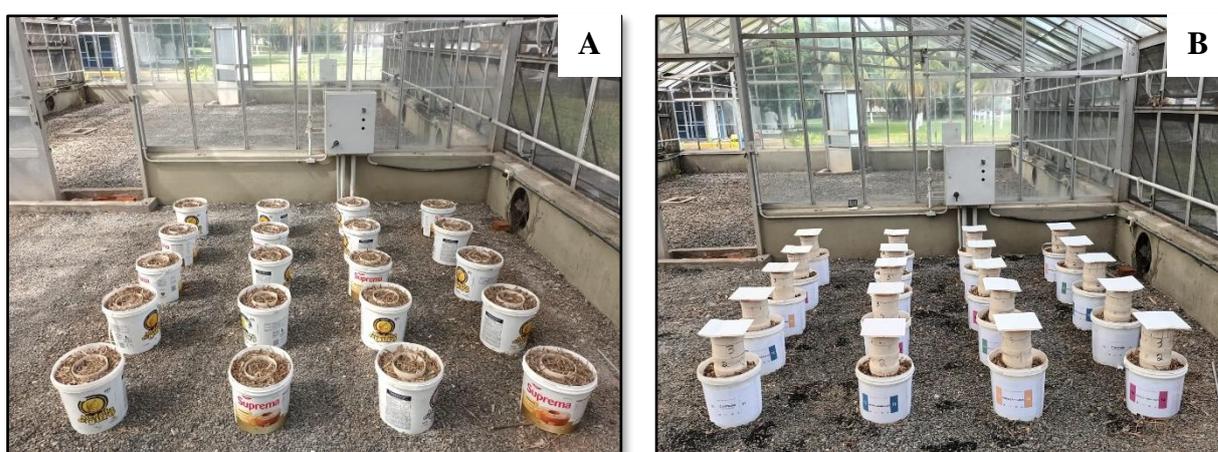
Diversos estudos foram realizados para avaliar o efeito do manejo na atividade de arilsulfatase e principalmente  $\beta$ -glicosidase (TEJADA et al., 2007; ADETUNJI et al., 2020; MAURYA et al., 2020; POKHAREL et al., 2020). Contudo, até onde sabemos não há estudos de curta duração com o efeito da aplicação de ureia diluída na vinhaça *in natura* com e sem inibidores de urease.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Descrição e condução da área experimental

O estudo foi realizado no período de março a abril de 2023, na casa de vegetação do Instituto Agrônomo de Pernambuco - IPA, localizado no município de Recife, Pernambuco. O experimento foi montado em vasos de 15 L contendo 20 kg de substrato de solo seco coberto com palha de cana-de-açúcar (**Figura 1**).

**Figura 1** - Distribuição das parcelas experimentais (A) e câmaras de coleta instaladas após aplicação dos tratamentos (B).



Fonte: Acervo pessoal.

O solo e a palha vegetal foram coletados em área comercial cultivada com cana-de-açúcar da Usina São José, localizada em Igarassu-PE. A camada de solo correspondeu a profundidade de 0,0 – 0,2 m (camada arável e que possui maior interação com a palhada). Após a coleta, o solo foi seco ao ar e passado em peneira de 2 mm para retirada de resíduos vegetais. A palha de cana-de-açúcar foi coletada na mesma área, simulando condições de campo. Para isso foi utilizado um gabarito de madeira de 1,0 m<sup>2</sup> distribuído aleatoriamente no campo repetido dez vezes (VASCONCELLOS et al., 2018). Toda a palha presente no gabarito foi recolhida e, em seguida transportada ao Instituto Agrônomo de Pernambuco. Para homogeneização da palha, realizou-se a trituração em tamanhos aproximados de até 4,0 cm. A quantidade de palha adicionada aos vasos foi de 94,1 g (equivalente a 10 Mg ha<sup>-1</sup> de massa seca). A temperatura e umidade do ar média durante o estudo foi de 33,2 °C e 55,4%, respectivamente.

A caracterização química e física do solo arenoso foi realizada seguindo as metodologias propostas por Teixeira (2017), e está descrita na **Erro! Fonte de referência não encontrada.** A caracterização física consistiu na avaliação granulométrica pelo método da pipeta para

definição da classe textural. A caracterização química consistiu na análise de pH em água (1:2,5); acidez potencial extraída em acetato de cálcio 0,5 mol L<sup>-1</sup>; Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup> e Na<sup>+</sup> extraídos em cloreto de amônio; P, Mn, Fe, Cu e Zn extraídos em Mehlich 1; Al<sup>3+</sup> foi extraído em cloreto de potássio. A acidez potencial e Al<sup>3+</sup> foram determinados por titulometria; P, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Mn, Fe, Cu e Zn por espectroscopia de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES); Matéria orgânica do solo (M.O.S) foi determinada pelo método da mufla. A partir desses resultados foram calculadas a soma de bases (SB), saturação de bases (V%), saturação de Al (m%) e a capacidade de troca catiônica (CTC) potencial.

**Tabela 1** - Caracterização química e física do solo utilizado no experimento realizado em casa de vegetação.

Atributos químicos	
pH <sub>H2O</sub> (1:2,5)	6,15
M.O.S. (g kg <sup>-1</sup> )	8,88
Ca <sup>2+</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	1,54
Mg <sup>2+</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0,26
K <sup>+</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0,05
Na <sup>+</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0,03
Al <sup>3+</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0,00
P-Mehlich-1 (mg dm <sup>-3</sup> )	84,80
S-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg dm <sup>-3</sup> )	2,50
Fe <sup>2+</sup> (mg dm <sup>-3</sup> )	70,20
Cu <sup>2+</sup> (mg dm <sup>-3</sup> )	0,93
Mn <sup>2+</sup> (mg dm <sup>-3</sup> )	7,20
Zn <sup>2+</sup> (mg dm <sup>-3</sup> )	3,80
H+Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	1,04
SB (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	1,88
CTC potencial (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	2,92
V (%)	64,35
m (%)	0,00
Atributos físicos	
Areia total (g kg <sup>-1</sup> )	953,7
Areia grossa (g kg <sup>-1</sup> )	714,2
Areia fina (g kg <sup>-1</sup> )	239,5
Silte (g kg <sup>-1</sup> )	20,5
Argila (g kg <sup>-1</sup> )	25,8

SB: soma de bases; m: saturação por alumínio; V: saturação de bases; CTC: capacidade de troca catiônica.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, constituído por cinco tratamentos e quatro repetições, resultando em 20 parcelas experimentais (**Figura 1A**). Os tratamentos consistiram na aplicação de vinhaça enriquecida com N-ureia, na presença e ausência do inibidor de urease N-(n-butil) tiofosfato triamida (NBPT) e ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>): T1 – controle (sem N e Inibidor) T2 - Adubação convencional com ureia sólida; T3 - aplicação

de vinhaça enriquecida com N-ureia; T4 - aplicação de vinhaça enriquecida com N-ureia + NBPT e T5 – aplicação de vinhaça enriquecida com N-ureia +H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>.

A vinhaça utilizada foi in natura e coletada no poço de abastecimento dos caminhões de aplicação. A temperatura da vinhaça no momento da coleta foi de 55,1 °C (**Apêndice A**). A vinhaça foi armazenada em recipiente plástico e acondicionada em caixa térmica para envio ao laboratório. No laboratório, a vinhaça foi armazenada em refrigerador até o momento da análise e aplicação. A caracterização da vinhaça (**Tabela 3**) foi realizada de acordo com a norma técnica da CETESB, P4.321 (2015).

**Tabela 2** - Caracterização da vinhaça utilizada no estudo.

Atributos	Resultados
pH	5,26
N total (g L <sup>-1</sup> )	0,232
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (g kg <sup>-1</sup> )	0,235
K <sub>2</sub> O (g L <sup>-1</sup> )	2,922
CaO (g kg <sup>-1</sup> )	2,02
MgO (g kg <sup>-1</sup> )	0,90
Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	4,88
Fe (mg kg <sup>-1</sup> )	155,51
Zn (mg kg <sup>-1</sup> )	14,86
Mn (mg kg <sup>-1</sup> )	11,47
B (mg kg <sup>-1</sup> )	15,38
Mo (mg kg <sup>-1</sup> )	1,04

A lâmina de vinhaça foi determinada com base no teor de potássio (**Tabela 3**), para disponibilizar o total equivalente de 150 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O (SPIRONELLO et al., 1997). A quantidade de ureia utilizada para enriquecer a vinhaça foi calculada com base no teor de N da vinhaça e a dose desejada de 60 kg ha<sup>-1</sup> N (OTTO et al., 2013). O volume de vinhaça aplicado em cada vaso foi de 0,36 litros com concentração de 0,292 % e 0,0232% de K<sub>2</sub>O e N, respectivamente. A concentração de N na vinhaça após o enriquecimento foi de 0,18%.

O inibidor de urease utilizado foi o CoverN, que continha 26,7% de NBPT (m/m) e solventes, densidade de 1,07 g mL<sup>-1</sup> e foi produzido por Uby Agroquímica, Uberaba, MG, Brasil. O NBPT foi misturado a vinhaça enriquecida com N-ureia e homogeneizado manualmente em recipientes plásticos para atingir a dose de 600 mg de NBPT por quilograma de ureia.

O ácido bórico utilizado foi o Ubymix B16 que continha 16,7% de B (m/m) e foi produzido por Uby Agroquímica, Uberaba, MG, Brasil. O H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> foi aplicado para o fornecimento de 1,5 kg ha<sup>-1</sup> B, dose recomendada para cana-de-açúcar em solos deficientes

nesse micronutriente (0,0 a 0,6 mg kg<sup>-1</sup>) (CANTARELLA et al., 2022). A concentração de B na vinhaça após o enriquecimento foi de 0,0046 %. As quantidades de ureia, CoverN e Ubymix B16 aplicadas no vaso foram de 1,23 g, 2,58 µl e 63,50 mg, respectivamente.

### 3.2 Quantificação da volatilização do N-fertilizante

Em cada vaso foi instalada câmara estática semiaberta para medir a perda gasosa do N-fertilizante (ALVES et al., 2011). A câmara era composta por base cilíndrica feita de Policloreto de vinila (PVC), sendo a base inserida a 3 cm de profundidade do solo (**Apêndice B**). A base foi inserida no solo três dias antes da aplicação dos tratamentos. A câmara de PVC tinha 30 cm de altura e 15 cm de diâmetro, com cobertura de PVC que permitiu a troca de ar com o ambiente externo (**Figura 1 B e 2**).

O gás NH<sub>3</sub> foi capturado nas espumas de polietileno (densidade: 0,018 g/cm<sup>-3</sup>; espessura: 2 cm; diâmetro: 15 cm) embebidas em 40 mL de solução 1,5 mol L<sup>-1</sup> de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> com glicerina 5% (v/v) (MARIANO et al., 2012; NASCIMENTO et al., 2013). As espumas inferiores e superiores foram colocadas aproximadamente 10 e 20 cm da superfície do solo, respectivamente. A espuma inferior recebia o N-NH<sub>3</sub> proveniente do solo. A espuma superior evitava a contaminação de NH<sub>3</sub> oriundo da atmosfera.

**Figura 2** - Representação das câmaras estáticas semiabertas (adaptado de ALVES et al., 2011).



Fonte: Larissa Batista – não publicado.

Um dia antes da aplicação dos tratamentos, a umidade dos vasos foi mantida a 70% da capacidade de pote (CP). Esse volume foi estimado com base na umidade do solo retida na tensão de -10 KPa. Assim, cada vaso com solo seco recebeu uma lâmina correspondente a 12 mm de água. Após 24 horas de manter a umidade uniforme em todas as parcelas, os tratamentos com vinhaça foram aplicados no horário da tarde, utilizando regadores (**Figura 3 A**). No mesmo momento, a ureia foi aplicada à lanço de forma manual (**Figura 3 B**).

Para reduzir o erro experimental, a quantidade aplicada foi dividida em duas partes, de acordo com as áreas do vaso ( $0,07 \text{ m}^2$ ) e câmara ( $0,018 \text{ m}^2$ ). Assim, uma parte da fertilização foi aplicada primeiramente na parte interna da câmara de coleta de amônia ( $0,31 \text{ g ureia câmara}^{-1}$ ) e a segunda parte foi aplicada na parte externa da câmara ( $0,92 \text{ g ureia vaso}^{-1}$ ). Imediatamente após a aplicação dos tratamentos, a câmara de coleta de  $\text{NH}_3$  foi instalada. Trinta dias após a aplicação dos tratamentos foram simulados 10 mm de chuva dentro dos coletores. Especificamente, a água foi distribuída na superfície do solo com uso do regador.

**Figura 3** - Aplicação de vinhaça enriquecida com N-ureia (A) e aplicação de ureia sólida (B).



Fonte: Acervo pessoal.

### 3.3 Coleta de dados e determinação das variáveis avaliadas

#### 3.3.1 Quantificação das perdas de $\text{N-NH}_3$

A avaliação da volatilização da  $\text{NH}_3$  foi realizada aos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 15, 20, 25, 30 e 32 dias após a aplicação (DAF). Para tanto as espumas da parte inferior foram coletadas e armazenadas em sacos plásticos vedados e acondicionadas em freezer ( $-20^\circ\text{C}$ ) para posterior análise. As espumas retiradas da parte superior não foram utilizadas para análise.

A extração da solução das espumas foi realizada em laboratório em um sistema de bomba de vácuo Büchner-Kitassato com a adição de aproximadamente 600 mL de solução KCl 1 mol L<sup>-1</sup> (ALVES et al., 2011). Em seguida, 30 mL da solução extraída foi separada para determinação do teor de N por destilação pelo método de Kjeldahl e titulação com solução diluída de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (SILVA, 2009).

Para quantificar o N volatilizado em cada coleta, foi calculada a proporção de N volatilizado determinado em relação à quantidade de N aplicada em cada vaso, resultando em um valor percentual da dose (%N). Para calcular as perdas diárias de N, os dados foram normalizados dividindo o N volatilizado pelo período correspondente ao número de dias (**Equação 1**). O N acumulado foi calculado apenas em função da soma da quantidade de N volatilizada em cada período.

Equação 1 – Volatilização diária de NH<sub>3</sub>

$$\text{Volatilização diária (\%)} = \frac{\% \text{ perdas de N}}{\text{tempo}}$$

Onde: % perdas de N é obtido em cada coleta através da razão entre a quantidade de N volatilizado e a quantidade de N aplicado; Tempo: corresponde ao intervalo de tempo entre as coletas.

### 3.3.2 Análise do solo

Foram coletadas amostras de solo de 0 a 10 cm de profundidade aos 0, 1, 2, 3, 5, 10, 15, 20 e 30 DAF para avaliar a umidade (U%), pH, concentrações de N mineral (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e atividade de urease no solo. Para determinar a umidade do solo, as amostras foram pesadas imediatamente após a amostragem, novamente pesadas após 24 horas em estufa a 105 °C, e os resultados foram expressos em percentual, conforme a **equação 2**. O pH do solo foi medido em H<sub>2</sub>O na proporção solo-solução de 1:2,5, e o N mineral do solo (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) foi determinado por destilação a vapor após extração do solo em KCl 1 mol L<sup>-1</sup> na proporção solo-solução de 1:10 (SILVA, 2009).

Equação 2 – Umidade a base de massa

$$U\% = \frac{\text{massa úmida} - \text{massa seca}}{\text{massa seca}} \times 100$$

### 3.3.3 Atividade enzimática

Parte das amostras de solo para determinação da atividade enzimática foram armazenadas em freezer (-20°C) até o momento das análises. A urease no solo foi obtida de acordo com a

metodologia de Tabatabai e Bremner (1972). Em detalhe, 5 g de solo (<2 mm) foram incubados a 37 °C por 2 h após a adição de 1 mL de solução de ureia 0,2 mol L<sup>-1</sup>. Após a incubação, o N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> foi extraído com solução 2,5 mol L<sup>-1</sup> de cloreto de potássio-sulfato de prata (KCl-Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Para determinar o N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> na suspensão de solo resultante foi pipetado uma alíquota de 20 mL e submetido a destilação a vapor em destilador Kjeldahl. A atividade de urease foi obtida em espectrofotômetro de comprimento de onda 625 nanômetros e expressa N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> liberado em miligramas por quilograma de solo por hora (mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> kg<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>).

Para determinação da atividade das enzimas arilsulfatase e β-glicosidase, associadas aos ciclos do enxofre e do carbono, respectivamente, coletou-se amostras de solo na camada de 0 a 10 cm ao final do experimento (40 DAF). As amostras foram acondicionadas em freezer (-20 °C) até o período de análise. As atividades das enzimas β-glicosidase e arilsulfatase foram determinadas, utilizando-se os métodos descritos por Tabatabai (1994). Esta metodologia tem por base a incubação, com temperatura a 37 °C das amostras de solo, com uma solução tamponada de substratos específicos para cada enzima, promovendo a liberação do p-nitrofenol, que é determinado colorimetricamente.

### ***3.3.4 Análise da palha de cana-de-açúcar***

Aos 0, 1, 2, 3, 5 e 10 DAF foi realizada a avaliação da atividade de urease na palha. O teor de N na palha foi avaliado aos 0, 5 e 10 DAF. A determinação da concentração de N na palha foi obtida através da secagem da amostra em estufa a 65 °C até obtenção de massa constante. Posteriormente, realizou-se a pesagem de 0,1 g de amostra seca e moída que foi submetida a digestão sulfúrica, destilação e titulação (SILVA, 2009).

### **3.4 Análise estatística**

Estatísticas descritivas foram utilizadas para a verificação de tendências na mudança dos teores de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no solo, N total na palha e atividade de urease no solo e na palha. Os dados obtidos de atividade de arilsulfatase e β-glicosidase foram submetidos a análise de variância a 10% de probabilidade, e quando significativo, as médias foram comparadas pelo teste Tukey ( $p \leq 0,10$ ).

A volatilização diária e acumulada de N, o teor de umidade do solo, pH e teor de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> foram ajustados por regressão em função do tempo após a aplicação. Como critérios para escolha dos modelos de regressão, foram selecionados aqueles que apresentaram maior coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) e significância dos parâmetros até 10% de probabilidade pelo

teste t, bem como os melhores modelos que representaram o fenômeno (equações 1; 2; 3; 4).

Para o ajuste dos modelos foi utilizado o *software* Sigma Plot ®, versão 14.

Equação sino:

$$y = a * \exp\left[-0,5\left(\frac{t-t_0}{b}\right)^2\right]$$

Onde:  $\alpha$ : ponto de máximo da curva;

b: parâmetro de ajuste;

$t_0$ : ponto de inflexão;

t: DAF.

Equação sigmoide:

$$y = \frac{a}{1 + \exp\left(-\frac{t-t_0}{b}\right)}$$

Onde:  $\alpha$ : ponto de máximo da curva;

b: parâmetro de ajuste;

$t_0$ : ponto de inflexão;

t: DAF.

Equação de decaimento exponencial:

$$y = a * \exp^{-b*t}$$

Onde:  $\alpha$ : ponto de máximo da curva;

b: parâmetro de ajuste;

t: DAF.

Equação linear:

$$y = y_0 + a * t$$

Onde:  $y_0$ : intercepto;

$\alpha$ : coeficiente de inclinação da linha;

t: DAF.

As equações foram usadas para estimar parâmetros de interesse, incluindo a perda máxima diária de  $\text{NH}_3$ , perda máxima acumulada de  $\text{NH}_3$ , tempo em que ocorre o máximo da perda diária e tempo em que ocorrem 50% das perdas acumuladas. Este é um importante fator para comparar tratamentos com fertilizantes e inibidores, pois permitiu caracterizar o processo de

volatilização de  $\text{NH}_3$  em função do tipo de fertilizante, interação com o solo ou inibidor de urease.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Atividade da enzima urease no solo

A atividade de urease no solo apresentou comportamento que não obteve ajuste matemático significativo (**Figura 4 A**). Quando não houve aplicação da vinhaça, a urease no solo permaneceu estável durante os 10 dias, cujo valor médio foi de  $4,59 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$ .

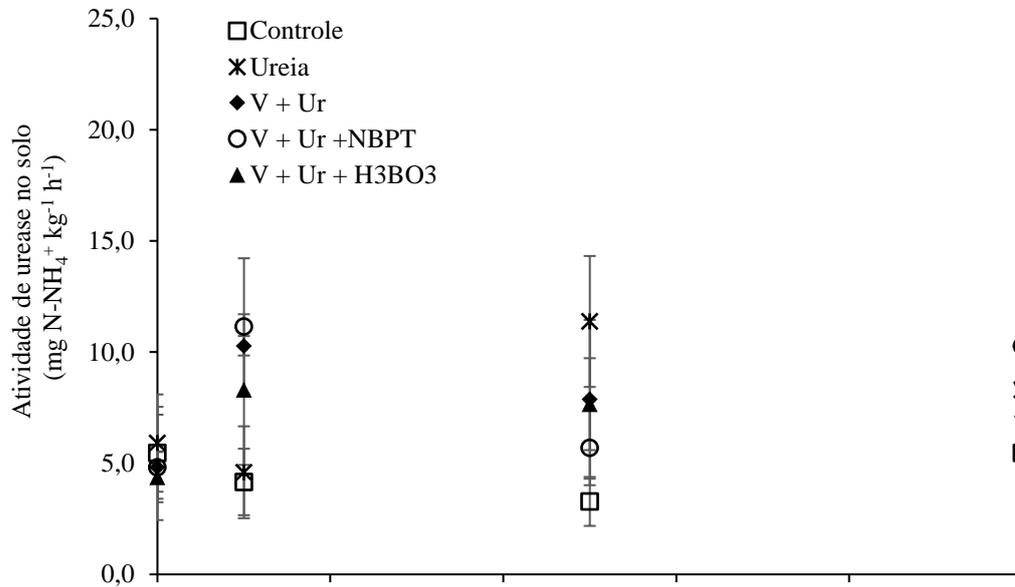
Com aplicação da vinhaça enriquecida, a urease do solo aumentou 112 % após 24 horas da aplicação, e não obteve diferença significativa quando usado inibidores. Assim, o valor médio atingiu  $9,92 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$  (**Figura 4 A**). Isso permitiu concluir que a lâmina de 5 mm de vinhaça rompeu a barreira de palhada e incorporou a ureia no perfil do solo. No quinto dia após aplicação, o valor médio da urease foi reduzido, exceto para com uso do  $\text{H}_3\text{BO}_3$ . Os inibidores avaliados não apresentam diferença e não contribuíram para reduzir a atividade da urease no solo.

O uso de ácido bórico na vinhaça não foi eficiente na redução da atividade da urease no solo. Antes de aplicar a vinhaça enriquecida, a atividade da urease no tratamento com ácido bórico foi de  $4,38 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$  e elevou-se para  $8,31 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$  em 24 horas, permanecendo constante aos 5 e 10 DAF.

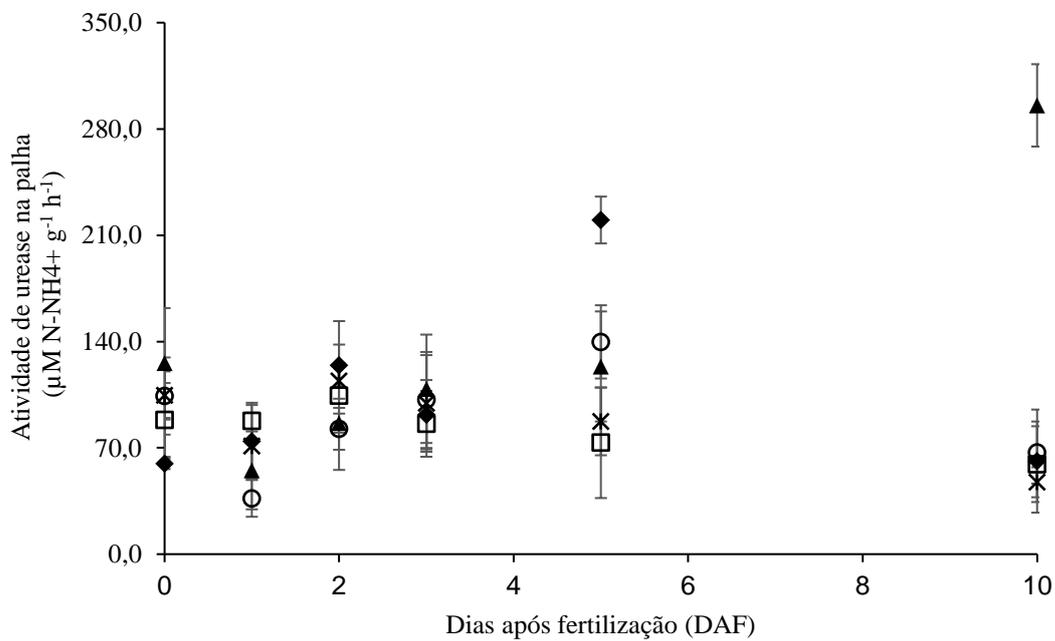
A ureia sólida aplicada na superfície obteve a maior de atividade de urease no solo no quinto dia após fertilização, com valor médio de  $11,38 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$ , sendo superior aos tratamentos com adição de vinhaça, os quais apresentaram valor médio de atividade de  $7,07 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$ .

**Figura 4** – Atividade da enzima urease no solo (A) e na palha da cana-de-açúcar (B) em relação a aplicação de vinhaça enriquecida com N e inibidores de urease.

A)



B)



#### 4.2 Atividade da enzima urease na palha

A atividade de urease na palha apresentou um comportamento que não obteve ajuste matemático significativo (**Figura 4 B**). Quando não houve aplicação da vinhaça e N, a atividade

da urease na palha não apresentou diferença significativa ao longo do tempo (**Figura 4 B**). Assim, essa atividade no solo e na palha foi de 5,08 e 1813,0 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> kg h<sup>-1</sup>, respectivamente, o que demonstra a alta atividade decorrente dos resíduos orgânicos.

A adição de grânulos de ureia não aumentou a atividade de urease nos restos culturais, cujos resultados não diferiram do tratamento não fertilizado. Após aplicação da vinhaça enriquecida e adubação sólida com N, a atividade da urease na palha permaneceu inalterada nas primeiras 24 horas, sem diferença significativa ao tratamento controle, com atividade média de 96,08 µM N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> g<sup>-1</sup> palha h<sup>-1</sup> (**Figura 4 B**). A adição de inibidores reduziu, em média, em 1,5 vezes a atividade de urease nas primeiras 24 horas após a aplicação.

A maior atividade enzimática na palha ocorreu no quinto dia com aplicação da vinhaça enriquecida sem inibidores, e no décimo dia com adição de ácido bórico na vinhaça enriquecida (**Figura 4 B**). No quinto dia a adição de NBPT e H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> reduziu a atividade de urease em 36% e 44 %, respectivamente.

### 4.3 N mineral no solo

O teor de amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) no solo não obteve ajuste matemático, e a diferença foi observada entre os tratamentos nos diferentes tempos avaliados (**Figura 5 A**). O teor de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) no solo se ajustou ao modelo de regressão linear (**Figura 5 B**). Quando não houve adubação com N, o teor de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no solo não apresentou diferença significativa nos 30 dias avaliados, com valores que variaram entre 0,44 a 2,33 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> kg<sup>-1</sup> solo, exceto aos 20 DAF que atingiu 5,54 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> kg<sup>-1</sup> solo.

A adição de vinhaça enriquecida ao solo incrementou o teor de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> nos primeiros cinco dias após a fertilização em 128 %., sendo que o maior teor foi observado no primeiro dia após a fertilização, com valores médios de 10,89, 13,42 e 15,17 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> kg<sup>-1</sup> solo para os tratamentos com V+Ur, V+Ur+NBPT e V+Ur+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> respectivamente.

O maior teor de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no solo quando a ureia sólida foi aplicada ocorreu no segundo DAF, com valores médios de 7,58 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> kg<sup>-1</sup> solo. Aos 20 DAF o teor de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no solo foi superior com uso da ureia sólida, atingindo teor médio de 10,21 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> kg<sup>-1</sup> solo e manteve-se superior até os 30 DAF.

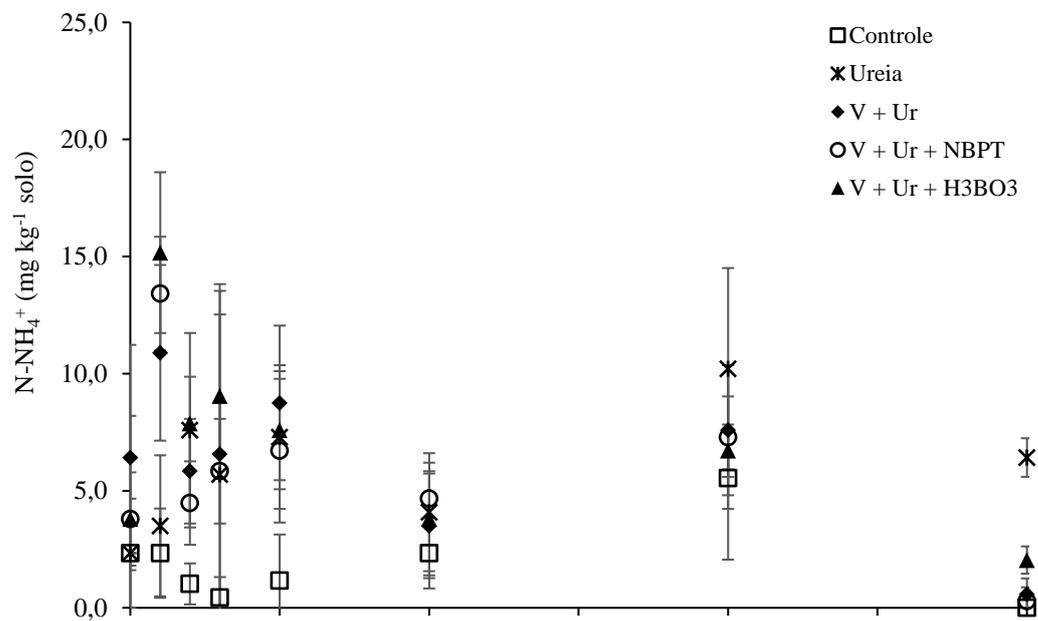
O uso de inibidores de urease não desacelerou a hidrólise de ureia no primeiro dia após a aplicação de vinhaça enriquecida. Além disso, observou-se que os teores de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no solo se aproximou dos tratamentos sem adição de NBPT ou H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>.

De maneira geral, houve queda nos teores de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> a partir do terceiro dia após a fertilização atingindo os menores valores aos 30 DAF com teores médios de 0,58, 0,29 e 2,04

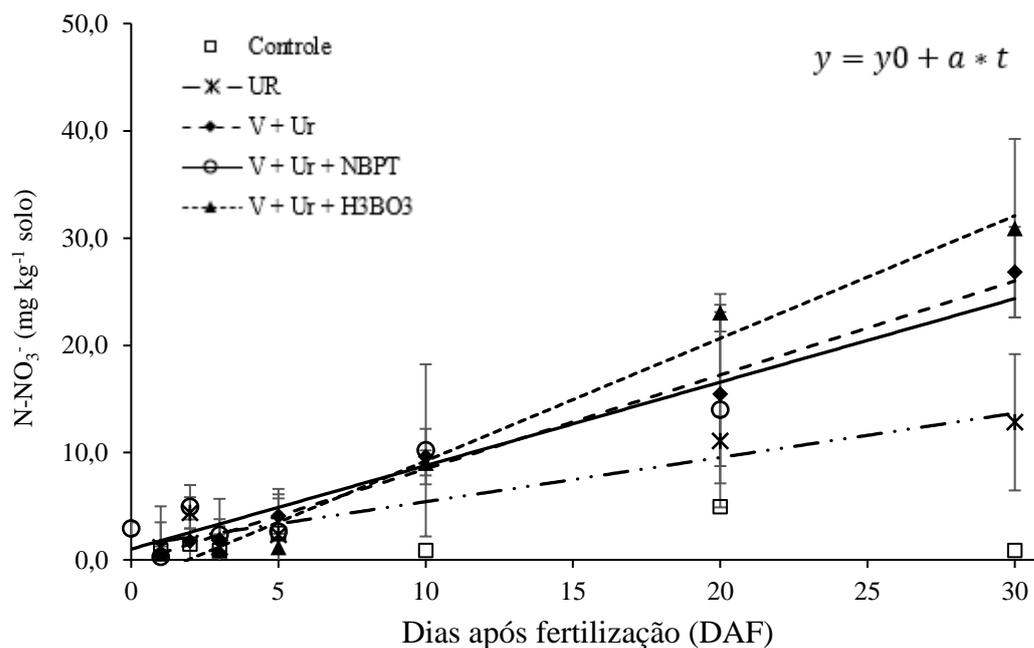
mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> kg<sup>-1</sup> solo para os tratamentos com V+Ur, V+Ur+NBPT e V+Ur+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> respectivamente. Aos 30 DAF, o tratamento que recebeu fertilização de ureia sólida apresentou teor médio de 6,42 N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> kg<sup>-1</sup> solo, sendo este superior aos tratamentos que receberam vinhaça enriquecida.

**Figura 5** – Teor de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (A) e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (B) no solo em relação a aplicação de vinhaça enriquecida com N e inibidores de urease.

A)



B)



**Tabela 3** - Parâmetros do modelo linear ajustado para a concentração de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no solo.

Tratamentos	Parâmetro		R <sup>2</sup>
	y <sub>0</sub>	a	
Controle	-	-	-
Ureia	1,30	0,41	0,89
V + Ur	-0,28	0,88	0,99
V + Ur + NBPT	1,01	0,78	0,93
V + Ur + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	-2,20	1,14	0,98

O teor de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no solo aumentou de modo linear nos 30 DAF com adição de N em todos os tratamentos. Quando não houve aplicação do N, o teor de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no solo não apresentou diferença no tempo avaliado, com valor médio atingindo 2,35 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup> solo (**Figura 5 B**).

Com uso da ureia sólida, o teor de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> foi menor no solo a partir do 20º DAF em relação ao uso de V+Ur+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> e aos 30 DAF, foi menor que todos os tratamentos com vinhaça, com valores de 13,60, 26,12, 24,41 e 32,00 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup> solo para ureia sólida, V+Ur, V+Ur+NBPT e V+Ur+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> respectivamente (**Figura 5 B**).

O tratamento com NBPT apresentou a menor taxa de incremento (a = 0,78) no teor de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no solo quando comparado ao tratamento sem inibidor de urease (V + Ur, a = 0,88). A adição de ácido bórico não desacelerou o processo de nitrificação e apresentou a maior taxa de incremento de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no solo (a = 1,14) (**Tabela 3**).

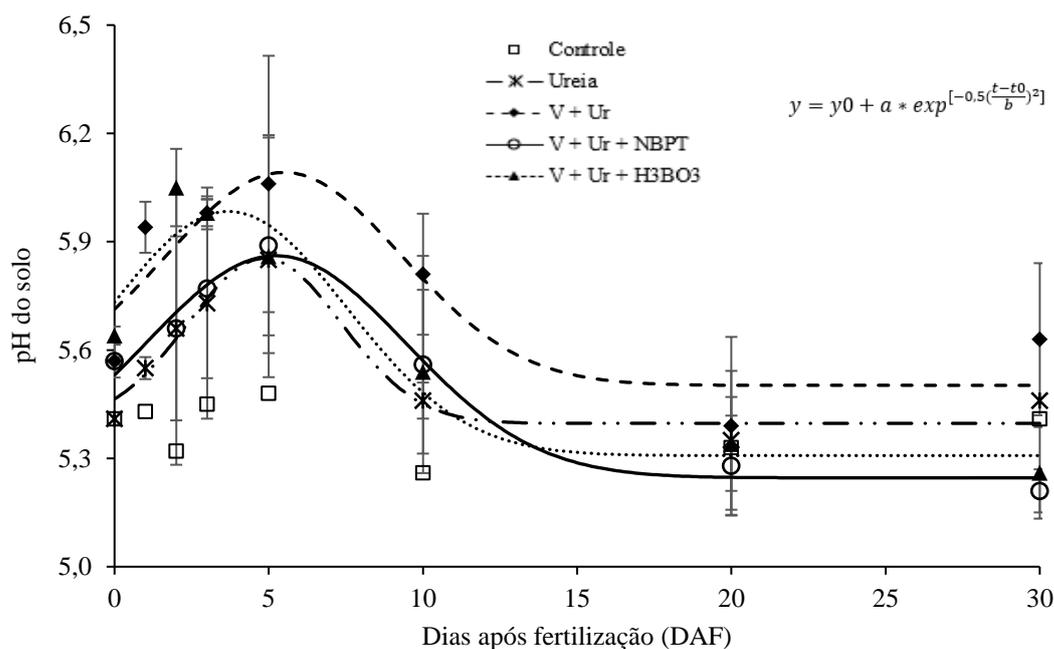
#### 4.4 pH do solo

O pH do solo obteve ajuste ao modelo não-linear de sino, exceto para o tratamento controle que não apresentou ajuste matemático (**Figura 6**). Houve efeito dos tratamentos no pH do solo ( $p < 0,05$ , parâmetro a). O valor máximo de pH encontrado foi de 6,09, 5,99, 5,87 e 5,86 para os tratamentos V+Ur, V+Ur+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, V+Ur+NBPT e ureia sólida respectivamente.

O maior pH ocorreu nos primeiros 5 DAF, o que indica rápida hidrólise da ureia. Os valores máximos de pH foram encontrados aos 3,69, 4,87, 5,23 e 5,49 DAF (parâmetro t<sub>0</sub>, **Tabela 4**) para os tratamentos com V+Ur+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, ureia sólida, V+Ur+NBPT e V+Ur respectivamente. De maneira geral, após 15 DAF houve estabilização da acidez ativa do solo.

Com uso da vinhaça houve maior elevação do pH do solo (parâmetro a = ponto de máxima da curva). A adição de vinhaça enriquecida com ureia e ácido bórico apresentou a maior elevação de pH do solo, com incremento de 0,68 unidades de pH. O uso de V+Ur+NBPT e V+Ur obtiveram incrementos de 0,62 e 0,59 unidades de pH, respectivamente. O menor aumento do pH do solo foi encontrado no tratamento com ureia sólida (**Tabela 4**).

**Figura 6** – Acidez ativa do solo (pH) em relação a aplicação de ureia, vinhaça enriquecida com N-ureia e inibidores de urease.



**Tabela 4** - Parâmetros do modelo não-linear (modelo de sino) ajustado para o valor de pH do solo.

Tratamentos	Parâmetro				R <sup>2</sup>
	$\alpha$	$\beta$	t0	y0	
Controle	-	-	-	-	-
Ureia	0,46	2,49	4,87	5,40	0,91
V + Ur	0,59	3,83	5,49	5,50	0,61
V + Ur + NBPT	0,62	4,21	5,23	5,25	0,96
V + Ur + H3BO3	0,68	3,83	3,69	5,31	0,86

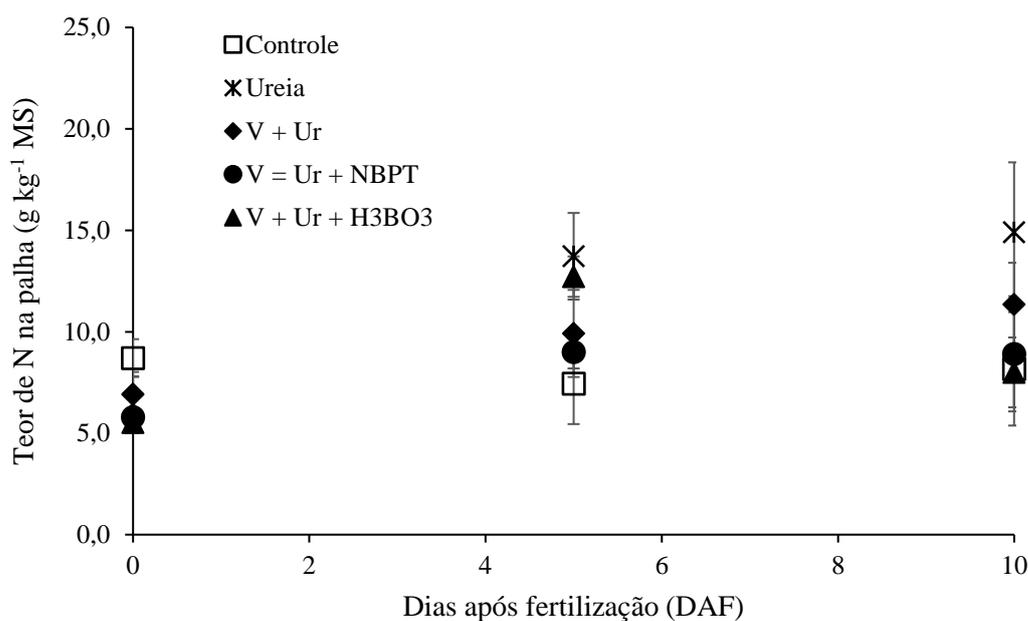
#### 4.5 N total na palha

O teor de N na palha não apresentou diferença significativa após dez dias no tratamento sem aplicação de N (**Figura 7**). Esses valores representam baixa variação entre os tempos de coleta, sendo quantificados em 8,70, 7,44 e 8,00 g kg<sup>-1</sup> de N de massa seca (MS) aos 0, 5 e 10 DAF, respectivamente.

A adição de fertilizante nitrogenado aumentou os teores de N na palha no quinto e décimo DAF (**Figura 7**). O N encontrado aos 5 DAF foi aproximadamente duas vezes maior ao observado no período anterior à fertilização. Aos 5 DAF, o teor médio dos tratamentos que receberam fertilização nitrogenada foi de 11,16 g kg<sup>-1</sup>, enquanto no tratamento controle esse teor foi de 7,44 g kg<sup>-1</sup>. O uso do NBPT na vinhaça enriquecida com N-ureia não elevou o teor de N na palha nos tempos avaliados, e não apresentou diferença significativa em relação ao teor da palhada que não recebeu N.

Com o uso da ureia sólida, o teor de N total na palha apresentou diferença significativa em relação ao uso de V+Ur+NBPT e ao controle aos 5 DAF, apresentando um incremento de 40 %. Já em relação ao tratamento V+Ur+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> e ao controle aos 10 DAF, esse aumento foi de 46 % (**Figura 7**). Aos 5 DAF, o teor médio encontrado nos tratamentos que receberam vinhaça foi de 10,54 g kg<sup>-1</sup>, enquanto a adição de ureia sólida elevou os teores para 13,72 g kg<sup>-1</sup>.

**Figura 7** – Teor de N na palha de cana-de-açúcar, em relação a aplicação de ureia, vinhaça enriquecida com N-ureia e inibidores de urease.



#### 4.6 Perdas de N-NH<sub>3</sub>

A volatilização diária de amônia seguiu o padrão matemático de sino (**Figura 8 A**). A maior perda diária de N-NH<sub>3</sub> ocorreu no 4º dia após a aplicação dos fertilizantes com uso da UR, V + Ur e V + Ur + H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (**Tabela 5**, parâmetro tempo 0). A adição de NBPT não desacelerou o período de maior volatilização, que ocorreu em 48 horas após a aplicação.

A maior volatilização foi observada com uso da ureia (**Figura 8 A**), com perda máxima diária de 2,66% do N aplicado e 15 vezes superior a aplicação com V+Ur. Com a mistura da ureia na vinhaça, a maior volatilização diária de NH<sub>3</sub> foi inferior a 1% do N aplicado.

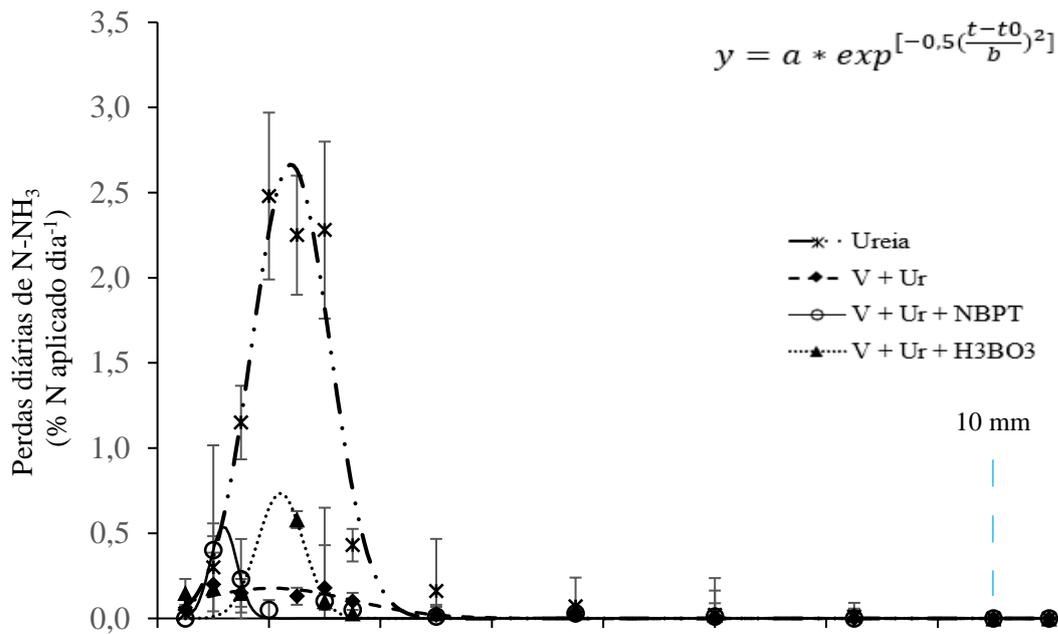
Na vinhaça enriquecida com N-ureia a adição dos inibidores não reduziu a volatilização de NH<sub>3</sub> e manteve perdas semelhantes ao longo do tempo, com exceção do 6º DAF, que apresentou maior volatilização (0,73%) com a adição de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> em comparação ao uso de V+Ur e V+Ur+NBPT.

A adição de ureia sólida sobre a superfície da palhada incrementou o percentual de perdas de amônia e apresentou teores volatilizados superiores aos demais tratamentos a partir do terceiro dia até o oitavo dia após a fertilização. De maneira geral, as perdas de N-NH<sub>3</sub> foram mais intensificadas nos primeiros 10 dias após a fertilização, posteriormente essas perdas foram inferiores a 0,2% do N aplicado.

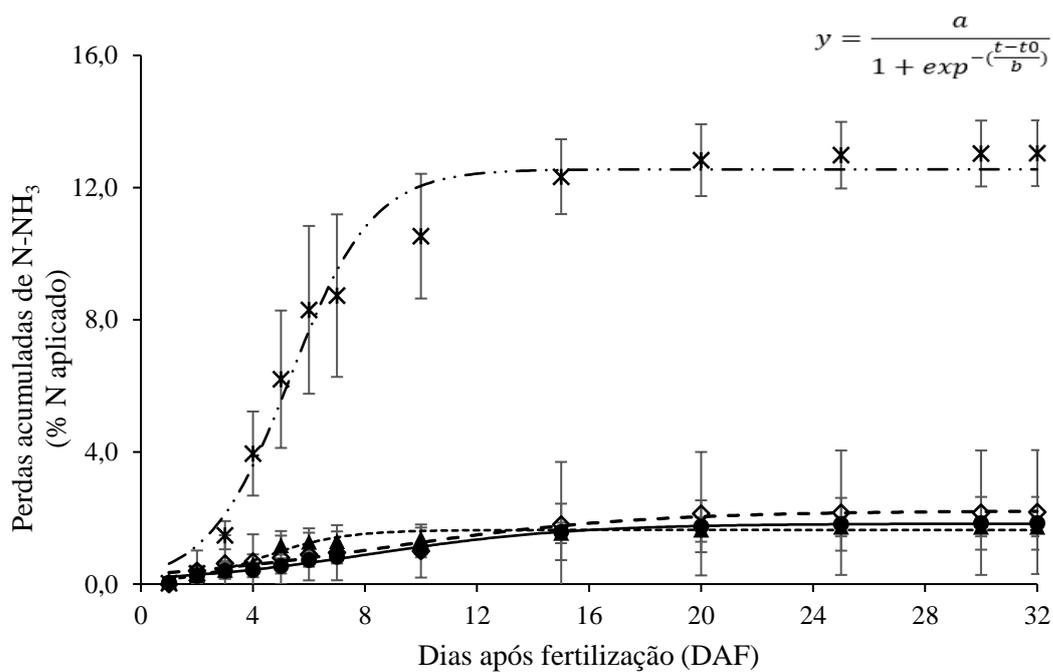
Aos 30 DAF foi realizado uma simulação de 10 mm de chuva para estimular os processos de perdas que haviam estabilizado a partir do 10º dia após a fertilização, contudo, não foi observado incremento na volatilização de amônia, o que indica que o potencial de perdas já havia cessado.

**Figura 8** – Perdas diárias (A) e acumuladas (B) de N-NH<sub>3</sub> por volatilização de 0 a 32 dias após a fertilização (DAF), em relação a aplicação de ureia, vinhaça enriquecida com N-ureia e inibidores de urease. A linha tracejada indica uma precipitação simulada de 10 mm no período especificado.

A)



B)



**Tabela 5** - Parâmetros do modelo não-linear (modelo de sino) ajustado para as perdas diárias de N-NH<sub>3</sub>.

Tratamentos	Parâmetro			R <sup>2</sup>
	$\alpha$	$\beta$	t <sub>0</sub>	
Ureia	2,66	1,39	4,79	0,94
V + UR	0,18	2,85	4,13	0,80
V + UR + NBPT	0,54	0,48	2,37	0,88
V + UR + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,73	0,83	4,42	0,76

**Tabela 6** - Parâmetros do modelo não-linear (modelo sigmoidal) ajustado para as perdas acumuladas de N-NH<sub>3</sub>.

Tratamentos	Parâmetro			R <sup>2</sup>
	$\alpha$	$\beta$	t <sub>0</sub>	
Ureia	12,55	1,47	5,34	0,98
V + Ur	1,83	3,65	8,24	0,99
V + Ur + NBPT	2,22	4,60	8,71	0,96
V + Ur + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1,64	1,42	4,37	0,96

A volatilização acumulada de amônia se ajustou ao modelo sigmoidal, separando em fases de perdas, onde a primeira fase apresentou aumento gradual, a segunda fase atingiu a perda máxima e estabilizou-se na fase final (**Figura 8 B**). O período de avaliação das perdas percentuais de amônia seguiu por até 32 dias após a fertilização. Como uso da ureia sólida houve a maior perda acumulada nos primeiros 10 dias após a aplicação, com volatilização total superior a 10% do N aplicado. Em contrapartida, a diluição da ureia na vinhaça e incorporação no solo desfavoreceu as perdas de amônia e apresentou taxas de volatilização inferiores a 2% do N aplicado aos 10 DAF.

Os tratamentos com uso de ureia convencional e V+Ur+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> atingiram 50% das perdas em até 5 DAF (t<sub>0</sub>, **Tabela 6**), enquanto a adição de V+Ur e V+Ur+NBPT apresentaram uma taxa de incrementação mais lenta e atingiram 50% das perdas após 8,24 e 8,71 dias da fertilização (**Tabela 6**).

A perda acumulada máxima ( $\alpha$ ) de N-NH<sub>3</sub> de acordo com o modelo ajustado foi de 12,55% com uso de ureia sólida. Para os tratamentos com adição de vinhaça enriquecida, as perdas acumuladas máximas em percentual de N aplicado foram de 1,83; 2,22 e 1,64 para V + Ur, V + Ur + NBPT e V + Ur + H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, respectivamente.

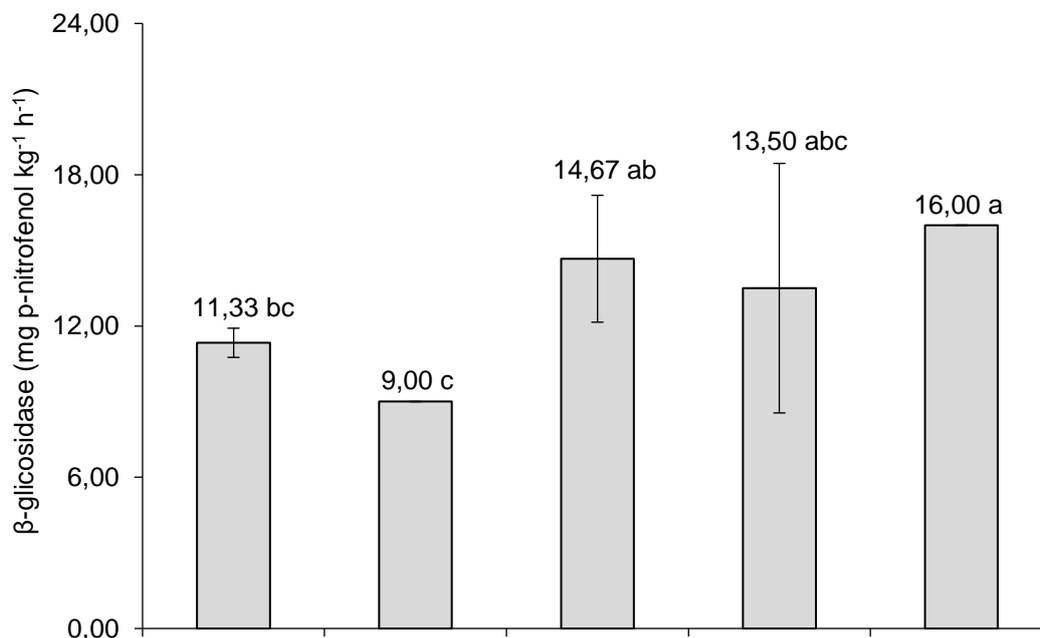
#### 4.7 Atividade biológica do solo

A atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase aos 40 DAF indicaram que os diferentes sistemas de fertilização do solo influenciaram a atividade enzimática do solo (**Figura 9**). O uso de ureia convencional ao sistema não alterou a atividade biológica do solo, apresentando comportamento semelhante ao tratamento controle para ambas as enzimas. A adição de vinhaça enriquecida ao sistema incrementou a atividade da  $\beta$ -glicosidase do solo em 45 %. Os inibidores de urease não influenciaram na atividade da enzima e apresentou valor médio de 14,75 mg p-nitrofenol  $\text{kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ .

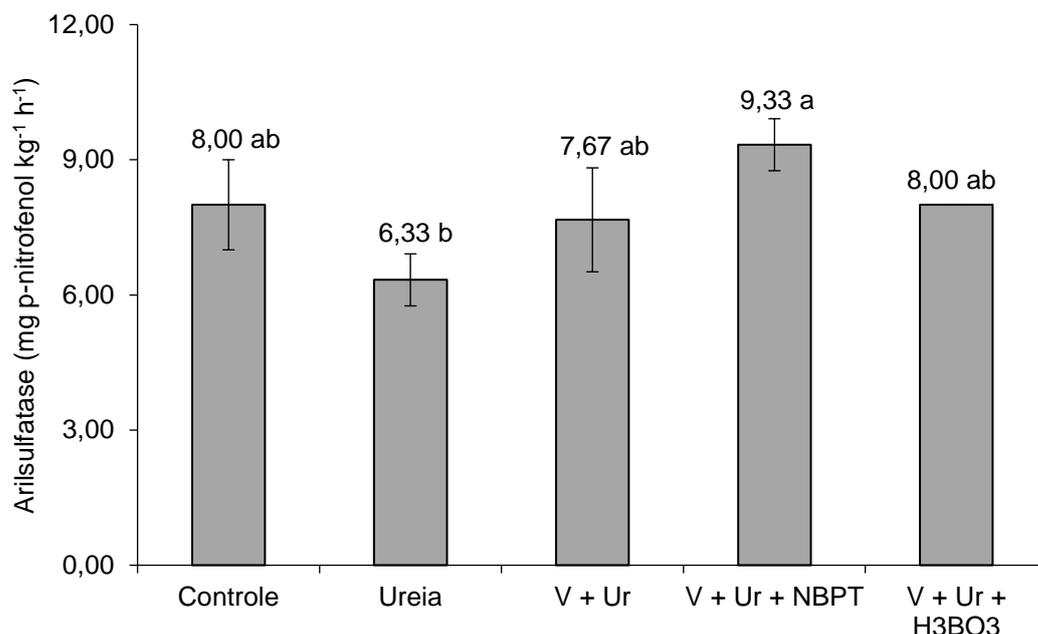
A atividade de arilsulfatase não apresentou diferença com a adição de ureia, V+Ur e V+Ur+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> com valor médio de 7,33 mg p-nitrofenol  $\text{kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ . A adição de NBPT apresentou incremento de 47% em relação ao uso de ureia sólida.

**Figura 9** – Atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase (A) e arilsulfatase (B) em solo arenoso 40 dias após fertilização (DAF).

A)



B)



## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 Atividade da enzima urease no solo

A adição de ureia sólida ou vinhaça enriquecida com ureia elevou a atividade da enzima urease no solo. Contudo, a atividade média no presente estudo foi de 7,59 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, onze vezes inferior ao relatado no estudo de Lei et al. (2018). Esta diferença pode ser devido a diferentes gradações de partículas de solo, teor de matéria orgânica, pH do solo e concentração de ureia aplicada. No estudo de Lei et al. (2018) as proporções de areia, silte e argila são 34,6%, 51,5% e 13,9%. Em contrapartida, os resultados atuais foram de 95,4%, 2,0% e 2,6%. Assim, no presente estudo, a persistência da enzima urease pode ter sido menor devido a maior presença de macroporos e baixa atividade de cargas que influenciam diretamente no metabolismo microbiano, os quais passam a estar desprotegidos fisicamente na camada superficial, desacelerando a expressão dessa enzima nesse determinado ambiente.

A concentração de ureia aplicada foi de 50 mg N kg<sup>-1</sup> de solo, ou seja, cinco vezes inferior a menor taxa de N utilizada no estudo de Lei et al. (2018). A atividade de urease no solo é intensificada com a adição de ureia no sistema até o ponto de saturação da enzima, momento em que ocorre uma inibição não competitiva e as taxas de hidrólise da ureia decaem (ANTIL et al., 2006). Além disso, o baixo teor de matéria orgânica do solo (<1,0%) pode ter contribuído para uma baixa atividade de urease, em função da baixa disponibilidade nutricional ou presença de compostos recalcitrantes (LEASEBURG et al., 2022). Particularmente, a matéria orgânica é

um importante contribuinte para a diversidade e abundância de microrganismos no solo, assim como para a proteção enzimática a nível de compactação e estruturação de agregados e proteções em suas oclusões físicas. De certa forma, solos com baixo teor de matéria orgânica tendem a apresentar baixa atividade biológica, assim, menor abundância de microrganismos ureolíticos capazes de sintetizar a enzima urease em quantidades que possam interferir na dinâmica do N (SIGURGARSON et al., 2018).

Neste estudo, houve um incremento da atividade de urease um dia após aplicação de vinhaça enriquecida. O rápido incremento da urease com a adição de vinhaça pode ser devido a entrada mais rápida de ureia diluída na vinhaça no perfil do solo, quando comparado a adição de grânulos de ureia sobre a palhada. A presença de alta carga orgânica na vinhaça também pode ter contribuído para o aumento da atividade da urease. Antil et al. (2006) observaram incremento na atividade da urease após a adição de diferentes materiais orgânicos. De acordo com os autores, esse aumento pode ser devido à presença de urease extracelular adsorvidas em partículas mais finas de matéria orgânica e ao aumento do crescimento microbiano, corroborando nosso estudo. Além disso, o aumento da atividade da urease com a adição de diferentes materiais orgânicos correspondeu às suas relações C:N, com menores relações apresentando maiores incrementos na atividade da urease. Devido a vinhaça ser um substrato orgânico com baixa relação C:N (<20), existe a possibilidade de aumentos significativos na atividade da urease, principalmente através da estimulação de microrganismos ureolíticos em função do incremento de compostos orgânicos residuais.

Os inibidores de urease NBPT e  $H_3BO_3$  apresentaram baixa eficácia na redução da atividade de urease no solo. A baixa eficácia de inibição pode ter ocorrido pela rápida degradação dos inibidores, os quais comumente são responsivos as variações de umidade e pH, típicas de ambientes tropicais. Suter et al. (2011) ao avaliarem não efeito da inibição da hidrólise de ureia por NBPT, reportaram baixa eficácia do inibidor sob condições de alta temperatura (25°C) e alta atividade de urease (186 mg N kg<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>). Após 14 dias, o percentual de ureia remanescente foi inferior a 1,1% sob condições de temperatura elevada (25°C), independentemente do tipo de solo utilizado. No presente estudo, a temperatura do solo permaneceu superior a 28 °C no período diurno, assim, a degradação dos inibidores pode ter sido mais rapidamente afetada.

A degradação do NBPT também é intensificada sob condições ácidas (LASISI et al., 2022). Estudos conduzidos por Engel et al. (2015) revelaram que sob condições de pH de 5,1, 98,6% e 91% do NBPT foi degradado após 24 horas em solos não-esterilizados e esterilizados respectivamente. No presente estudo, após 3 dias, 99,5% do NBPT foi degradado em ambos os

solos. Para o solo com pH de 6,1, as concentrações de NBPT caíram para 29,1 e 53,1% da taxa de aplicação em um dia para os tratamentos não-esterilizados e esterilizados respectivamente. No estudo atual, o pH inicial do solo foi de 6,15, contudo, os inibidores foram adicionados a calda da vinhaça, a qual possuía pH de 5,26, intensificando assim, a degradação do NBPT. A dose de NBPT utilizada no presente estudo foi de 600 mg kg<sup>-1</sup> de ureia, inferior a dose adotada no estudo de Suter et al., 2011 (1000 mg kg<sup>-1</sup> ureia), entretanto, estes autores demonstraram os efeitos desfavoráveis da alta temperatura, acidez e alta atividade de urease, necessitando-se assim, elevar a dose do NBPT.

A adição de ureia granular sobre a superfície da palhada não intensificou a atividade de urease nos primeiros 4 DAF. Foi encontrado aumento máximo de atividade apenas aos 5 DAF. O declínio máximo da urease no solo pode ter ocorrido pela retenção da ureia na superfície dos restos culturais. A solubilização da ureia através de umidade presente nos restos culturais e devido ao orvalho pode ter conduzido parte dessa ureia para o solo e assim, ter ocorrido uma elevação máxima de atividade aos 5 DAF. San Francisco et al. (2011) e Yao, et al., 2021 afirmam que a presença de restos orgânicos poderia impedir a interação do fertilizante com o solo e, no caso dos fertilizantes ureicos, potencializar a hidrólise da ureia, devido à atividade da urease associada a esses restos orgânicos.

## 5.2 Atividade da enzima urease na palha

A urease do solo é liberada de plantas mortas e microrganismos ureolíticos após a lise celular e depois imobilizada em argilas e substâncias húmicas (MIRA et al., 2017; SIGURDARSON et al., 2018). A atividade de urease na cobertura morta foi superior a encontrada no solo (**Figuras 4 e 5**) e os resultados encontrados sugerem que a urease da palha foi a principal fonte de hidrólise da ureia.

Em sistemas onde a ureia é aplicada em cobertura, os resíduos vegetais na superfície do solo bloqueiam ou retardam o contato entre o solo e o fertilizante e aumentam a atividade da urease no solo, favorecendo a volatilização do NH<sub>3</sub> (MIRA et al., 2017). Contudo, a adição de grânulos de ureia teve menor impacto na atividade de urease quando comparado a adição de vinhaça. Isto pode ter ocorrido pela menor superfície de contato ao adicionar grânulos no solo, o que pode ter aumentado mais intensamente a atividade dessa enzima apenas em sítios específicos. Além disso, a maior atividade de urease após adição de vinhaça sugere que houve incremento na atividade biológica sobre a palhada. Diversos autores relatam que a presença de resíduos orgânicos estimula a atividade microbiana, que podem aumentar a presença de urease extracelular e intracelular (ANTIL et al., 2006; CARPANEZ et al., 2022).

A adição de NBPT reduziu a atividade enzimática no 1º, 2º e 5º DAF, contudo, isto não refletiu em menores perdas de N acumulado (**Figura 11**). Em contrapartida, Cantarella et al. (2018) demonstraram que a adição de NBPT à ureia induziu redução média de N de 50%. O período em que o NBPT permanece ativo determinará a sua eficácia na redução das perdas de NH<sub>3</sub>. Em solos tropicais, a degradação pode começar após dois a quatro dias (SOARES et al., 2012), mas pode levar até 10 ou 15 dias em solos de baixa temperatura, como aqueles em regiões de clima temperado (WATSON et al., 2008).

### 5.3 N mineral no solo

De maneira geral, os conteúdos de N inorgânico no solo para a camada de 0 a 10 cm foram baixos em todos os tratamentos, não ultrapassando 16 mg de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> kg<sup>-1</sup> solo e de 32 mg de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup> solo. Oliveira et al. (2023) encontraram valores máximos de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup> de até 324 mg kg<sup>-1</sup> e 112 mg kg<sup>-1</sup> de solo, respectivamente, após fertilização com 120 kg N-ureia ha<sup>-1</sup>. No presente estudo, a dose de ureia foi para fornecimento de 60 kg N ha<sup>-1</sup>. O baixo incremento de N inorgânico pode ter ocorrido principalmente pela baixa dose de ureia aplicada e pela incorporação de N mineral em perfis mais profundos do solo, após aplicação de uma lâmina de 5 mm de vinhaça.

A rápida elevação dos teores de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> após adição de vinhaça pode ter ocorrido pela rápida hidrólise de ureia. O uso de vinhaça permite a dissolução da ureia na calda de aplicação e disponibiliza água para que ocorra sua hidrólise ao entrar em contato com o sistema solo-palha, rico em urease. Assim, na presença de água e urease, a hidrólise de ureia ocorre rapidamente. Estudos conduzidos por Zhao et al. (2022) demonstraram que a adição de biochar, pirolisado a partir de palha de milho, acelerou o processo de hidrólise de ureia, obtendo 95,66% de N-ureia hidrolisado após 24 horas, contra 86,25% no tratamento sem biochar. Neste estudo, o teor de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> atingiu o seu valor máximo 48 horas após a fertilização ureica.

De acordo com Zhao et al. (2022), a contribuição de materiais orgânicos no incremento da taxa de hidrólise de ureia deve-se ao aumento da atividade de urease intracelular através do efeito *priming* na atividade biológica do solo, sobretudo, do aumento na abundância de microrganismos ureolíticos. Este aumento pode ser explicado pela suplementação de quantidade considerável de C biodisponível e pela modificação das propriedades físico-químicas do solo pelo biochar, que contribuem para melhorar a estrutura da comunidade microbiana do solo e aumentar a atividade de suas principais enzimas (ZHANG et al., 2020; LI et al., 2019). Devido a vinhaça ser um resíduo orgânico rico em carbono, o seu teor de carbono não pode ser mensurado. Contudo, diversos estudos indicam que esse teor pode atingir mais de

100 g L<sup>-1</sup>, com uma relação C:N de 16,0 – 21,0, sendo uma importante fonte de C biodisponível para os microrganismos (MARIANO et al., 2009; PAZ-PINO et al., 2014; CARRILHO et al., 2016; REIS e HU, 2017).

O uso de ureia granular deteve menores incrementos de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no solo em comparação a adição de vinhaça enriquecida. O primeiro aumento significativo de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ocorreu apenas dois dias após fertilização. Os menores incrementos nos teores de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> apenas aos 2 DAF com adição de ureia granular provavelmente ocorreu devido a retenção de uma parte da ureia na superfície da palhada. Após a dissolução do grânulo e hidrólise da ureia, uma parte do N mineral pode ter rompido a camada de palha e entrou em contato com o solo, o que gerou tais aumentos observados graficamente

O uso de inibidores não apresentou efeito na redução dos teores de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. A maior atividade de urease com adição de vinhaça, alta temperatura e acidez do solo e vinhaça podem ter acelerado o processo de degradação dos inibidores e permitido uma rápida hidrólise da ureia. Oliveira et al. (2023) ao avaliarem o efeito da aplicação de vinhaça concentrada enriquecida com ureia nos teores de N mineral do solo, encontraram os maiores valores de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no solo em até 6 DAF.

Os teores de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> foram maiores nos primeiros dias após a fertilização, independente do tratamento utilizado. Agehara et al., 2005 ao avaliarem a liberação de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup> em solo incubado após aplicação de 63 mg N-ureia kg<sup>-1</sup> solo, sob condições de 70% da capacidade de campo (CC) observaram que >75% do N aplicado foi encontrado na forma de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ou NO<sub>3</sub><sup>-</sup> após 7 dias da fertilização. No estudo atual, as condições de umidade do solo nos primeiros dias após aplicação eram superiores a 70% da capacidade de campo (Umidade > 6,5%) (**Anexo A**) que pode ter favorecido para a rápida hidrólise enzimática da ureia.

Durante o período de condução experimental foi observado aumento nas concentrações de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> após fertilização nitrogenada. Dong et al. (2009) encontraram incremento na concentração de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> em solo incubado por 30 dias com adição de 4,7 mg N-ureia g<sup>-1</sup> solo, onde a concentração inicial foi de 0,2 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> g<sup>-1</sup> solo e elevou-se para 3,0 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> g<sup>-1</sup> solo após 30 dias de incubação. Aqui, a concentração inicial no tratamento não fertilizado foi de 0,89 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup> solo e após 30 dias a concentração de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> foi de 13,16 e 27,25 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup> de solo nos tratamentos com ureia granular e vinhaça enriquecida, respectivamente. A nitrificação dos fertilizantes amoniacais, conversão de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> a NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, ocorre em até 4 semanas, assim, para a maioria dos solos aráveis, a nitrificação é tão universal e rápida que as aplicações de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> podem geralmente ser consideradas quase equivalentes à aplicação de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (SUBBARAO et al., 2009).

As maiores concentrações de  $\text{NO}_3^-$  foram observadas com a adição de vinhaça enriquecida. Isso pode ter ocorrido pela rápida hidrólise de ureia e nitrificação de  $\text{NH}_4^+$ . Esta rápida hidrólise pode estar associada ao aumento observado na atividade de urease (**Figura 4**), assim como a rápida incorporação do nitrogênio no perfil do solo provocado pela lâmina de vinhaça utilizada. A adição de compostos orgânicos ao solo eleva a atividade de microrganismos ureolíticos, acelera a hidrólise de ureia e intensifica os processos de nitrificação (ZHAO et al., 2022).

O menor incremento de  $\text{NO}_3^-$  no tratamento com ureia granular provavelmente ocorreu devido a maior retenção dos grânulos de ureia na superfície da palhada, além da ausência de água suficiente para solubilização dos grânulos, reduzindo o contato ureia-solo. No tratamento com adição de ureia, os processos reativos da ureia ocorreram predominantemente na superfície dos restos culturais que elevaram a suscetibilidade a perdas por volatilização e reduziram o potencial de incorporação de formas amoniacais e nítricas no solo.

#### 5.4 pH do solo

O pH do solo foi pouco modificado pelos diferentes tratamentos utilizados alcançando um valor máximo de 6,09. A adição de fertilizantes ureicos pode elevar o pH a valores superiores a 9,0 que deslocam o equilíbrio da reação e favorecem o processo de volatilização de  $\text{NH}_3$  (CANTARELLA et al., 2018). A menor modificação encontrada nesse estudo pode ter ocorrido pela leitura de pH não ter sido realizada em microssítios do solo. No presente estudo, o pH foi analisado na camada de 0 a 10 cm de profundidade e uma área de superfície de 6,14  $\text{cm}^2$ . Um estudo realizado por Christianson et al. (1993) e Iqbal et al., 2021 demonstraram que há um declínio acentuado no pH do solo entre a zona imediata de adição do fertilizante (0,4 cm de distância do grânulo, pH 7,2) para a borda da zona de amostragem (2 cm de distância do grânulo, pH 6,0). Assim, provavelmente houve um efeito de diluição no pH do solo das amostras coletadas (10 cm de profundidade e 4 cm de diâmetro).

O aumento máximo de pH ocorreu próximo aos 5 DAF. A adição de ureia granular apresentou baixa elevação no pH do solo, isso pode ter ocorrido devido a hidrólise da ureia ter acontecido sobremaneira na superfície da palhada, sem ter tido contato direto com o solo (SAN FRANCISCO et al., 2011). Para os tratamentos que receberam vinhaça enriquecida, os efeitos no pH foram decorrentes, principalmente, das modificações provocadas pela vinhaça. Apesar da vinhaça possuir caráter ácido, houve elevação no pH do solo nos primeiros dias após a aplicação. Diversos autores têm relatado resultados contrastantes do efeito da vinhaça na modificação do pH do solo (MATTAZZO e GLÓRIA, 1987; JIANG et al., 2012; SILVA et

al., 2014; YIN et al., 2019; CARDOSO et al., 2021). Contudo, essa elevação no pH decorrente da aplicação de vinhaça pode ser devido, principalmente, à oxidação da matéria orgânica realizada por microrganismos.

Mattiazzo e Glória (1987) ao avaliarem o efeito da vinhaça na acidez do solo encontraram incremento no pH quando adicionaram vinhaça em solos não esterilizados. Contudo, quando inibiram a atividade biológica do solo, houve redução ou manutenção no pH até 80 DAF. Os autores relatam que essa elevação do pH é parcialmente explicada pela redução do ambiente após aplicação de vinhaça, assim, o oxigênio e hidrogênio do ambiente servem como aceptores de elétrons produzindo diretamente a neutralização, tendo a atividade microbiológica papel essencial nesse processo. Além disso, a complexação de alumínio pelos coloides da vinhaça, assim como a incorporação de bases trocáveis presentes na vinhaça também possuem contribuição para essa elevação do pH do solo.

Após o aumento de pH aos 5 DAF, ocorreu um decréscimo no pH e posteriormente uma estabilização no pH do solo após 15 dias da fertilização nitrogenada. O comportamento do pH foi influenciado pelas reações de hidrólise da ureia, aporte de vinhaça e processos de nitrificação e desnitrificação de N. O solo experimental apresentava alta umidade (Umidade > 6,5% ou >70% CC, **Anexo A**), assim, os processos reativos ocorreram rapidamente. Sob condições de umidade, a hidrólise da ureia ocorre nos primeiros 5 DAF, o que eleva o pH do solo. A amonificação é um processo rápido que dura de horas a 3–5 dias (ABDO et al., 2022). É acompanhada por nitrificação intensiva, que libera 2 mols de  $H^+$  quando 1 mol de  $NH_4^+$  é oxidado a 1 mol de  $NO_3^-$ . Assim, o impacto final da nitrificação é a redução do pH seis a dez dias após a aplicação do fertilizante N (ABDO et al., 2022).

### **5.5 N total na palha**

Os efeitos da presença de camada de palha na volatilização de amônia após aplicação superficial de fertilizante nitrogenado podem ser diretos, por meio da palhada funcionando como uma barreira física que impede a incorporação da ureia no solo, e indiretos, os quais estão relacionados ao efeito da cobertura sobre o meio ambiente (temperatura e umidade) e às condições biológicas na interface palhada-solo (OTTO et al., 2013; PINHEIRO et al., 2018). Os resultados mostraram que a presença de palhada serviu como uma barreira física à entrada de fertilizante nitrogenado no solo. Além disso, houve aumento nos teores de N total na palha após adição de vinhaça enriquecida com ureia e principalmente após adição de ureia granular.

Pinheiro et al. (2018) ao analisarem o efeito de diferentes quantidades de palha de cana-de-açúcar na retenção de N-fertilizante observaram incremento nos teores de  $NH_4^+$  e N total a

partir de 1 até 7 DAF. Os autores encontraram maior acúmulo de N total com maior quantidade de palha (12 Mg MS ha<sup>-1</sup>), sugerindo retenção de ureia na cobertura morta. No presente estudo, a quantidade de palha foi de 10 Mg ha<sup>-1</sup>, semelhante a maior quantidade de cobertura morta estudada por Pinheiro et al., 2018. Observou-se maior teor de N total aos 10 DAF com ureia sólida, o que evidencia o potencial de retenção da ureia pelos resíduos orgânicos.

A aplicação de ureia dissolvida na vinhaça foi capaz de transportar parte dessa ureia até o solo, evidenciado pelos menores aumentos máximos de N total quando comparado a aplicação de grânulos de ureia. Pinheiro et al. (2018) observaram que uma chuva de 10 mm em seu segundo experimento incrementou os teores de N no solo derivado da ureia, o que significa que ocorreu rápida dissolução dos grânulos que facilitou seu transporte até o solo.

### 5.6 Perdas de N-NH<sub>3</sub>

As maiores perdas de N-NH<sub>3</sub> ocorreram nos primeiros 6 dias após a fertilização. O mesmo padrão foi observado para a atividade de urease no solo e palha, pH e teor de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no solo, o que sugere rápida hidrólise da ureia. Estudo conduzido por Oliveira et al. (2023) mostrou comportamento semelhante com a adição de vinhaça concentrada enriquecida com ureia, sendo observado os maiores aumentos máximos de perdas nos dias 4, 5 e 6 após a fertilização, assim como observado em nosso estudo (**Figura 10**). No presente estudo, as condições de umidade do solo (**Anexo A**), maiores que 70% da CC nos primeiros dias, assim como as elevadas temperaturas (>30 °C) favoreceram a rápida hidrólise da ureia.

Os resultados indicaram que a aplicação de uma formulação organomineral à base de V + UR (com ou sem adição de inibidor de urease) foi eficiente para reduzir as perdas por volatilização de NH<sub>3</sub>. Comparada com a aplicação de ureia convencional, a formulação organomineral diminuiu a volatilização de NH<sub>3</sub> em aproximadamente 80%. Olivera et al. (2023) encontraram reduções de aproximadamente 50 e 90% nas estações secas e chuvosas, respectivamente. Otto et al. (2017a) ao avaliar as perdas de N a partir da aplicação de vinhaça concentrada sob condições controladas de casa-de-vegetação obtiveram reduções de aproximadamente 40%. Estas reduções podem estar associadas à acidez da vinhaça (pH 5,2) combinado com maior incorporação de ureia ao solo devido ao volume de vinhaça carregando ureia (OTTO et al., 2017a; OLIVEIRA et al., 2023). Os tratamentos com vinhaça foram aplicados na proporção de uma lâmina de água de 5,0 mm, o que é suficiente, pelo menos para a incorporação parcial da ureia dissolvida e redução das perdas de NH<sub>3</sub> (OLIVEIRA et al., 2023).

A adição de NBPT ou  $H_3BO_3$  à vinhaça enriquecida com ureia não foi eficiente em mitigar as perdas de N. Estes resultados corroboram trabalhos resultados de Otto et al. (2017a), os quais observaram que a adição de  $H_3BO_3$  à vinhaça concentrada+UR não foi eficiente na redução das perdas de N. Os autores relataram ainda que a redução nas perdas de N está mais intimamente associada à acidez e não estritamente à ação do ácido bórico para reduzir a volatilização. No estudo atual, a taxa de ácido bórico adicionado não alterou o pH da calda.

Diversos estudos têm demonstrado o potencial do NBPT em retardar a taxa de hidrólise da ureia (CANTARELLA et al., 2018; BARTH et al., 2020; CASSIM et al., 2021; CHENG et al., 2022). Contudo, não há estudos relatando a eficiência do inibidor de urease quando associado à vinhaça *in natura*+UR. A baixa eficiência do NBPT encontrada em nosso estudo pode estar relacionada a acidez e conteúdo de matéria orgânica da vinhaça que provavelmente aceleraram o processo de degradação do NBPT (ENGEL et al., 2015), conforme sugerido pela atividade de urease no solo e teor de  $NH_4^+$  que não diferiram dos demais tratamentos, o que indica rápida hidrólise da ureia.

As maiores perdas foram observadas com a adição de ureia convencional alcançando >12% de perdas do N aplicado após 32 dias da fertilização. A elevada volatilização de  $NH_3$  proveniente da aplicação de ureia granular tem sido associada à aplicação do fertilizante nitrogenado sobre a palhada, como observado na maioria dos estudos realizados com adubação ureica em áreas com cobertura morta (ROCHETTE et al., 2009; OTTO et al., 2017b; PINHEIRO et al., 2018; DEGASPARI et al., 2020). Aqui, a quantidade de palha na superfície do solo foi elevada ( $10 \text{ Mg ha}^{-1}$ ), com uma espessura de 5 cm, o que aumenta a atividade de urease e dificulta o transporte da ureia até o solo. Os resultados encontrados confirmam uma alta atividade de urease na superfície da palhada em comparação ao solo, assim como os teores de N na palha que sugerem uma alta retenção de ureia sobre a palhada e elevam a suscetibilidade de perdas. Dessa forma, a hidrólise da ureia pode ter ocorrido predominantemente sobre a superfície dos restos vegetais, com uma menor concentração de íons  $H^+$  para conversão de  $NH_3$  a  $NH_4^+$  e sem interações com os colóides do solo capazes de adsorver o  $NH_4^+$ .

A simulação de 10 mm de chuva aos 32 DAF não incrementou as perdas de  $NH_3$ . Otto et al. (2017a) observaram um incremento nas perdas de  $NH_3$  ao simular uma chuva de 10 mm aos 4 DAF atingindo até 6% de perdas do N aplicado. Gallucci et al. (2019) realizaram um estudo de campo e observaram baixas taxas de volatilização mesmo após uma chuva de 4,1 mm aos 25 DAF. Os autores sugerem que a baixa umidade do solo pode ter afetado a atividade da urease e, assim, a taxa de hidrólise de ureia permaneceu baixa durante todo o período experimental. No presente estudo, a umidade do solo foi acima de 50% da CC nos primeiros 10 DAF e infere-

se que esse período de 10 dias com boa umidade do solo foi suficiente para hidrólise de toda a ureia aplicada.

### 5.7 Atividade biológica do solo

Os indicadores de qualidade do solo ligados à atividade microbiana podem apresentar modificações devido a perturbações em um período mais curto do que aqueles ligados às propriedades físicas ou químicas (GARCIA-RUIZ et al., 2008). Neste estudo, foi possível observar alterações na atividade de  $\beta$ -glicosidase 40 DAF. Contudo, a atividade de arilsulfatase não foi responsiva ao uso de ureia ou vinhaça enriquecida com ureia com ou sem inibidores.

De forma geral, houve baixa atividade biológica relacionada às enzimas produzidas pela biota do solo. Isto pode ser explicado pelo baixo aporte de matéria orgânica no solo (<1%) e baixo teor de argila (<3%) (BALIGAR et al., 2005). De acordo com Martín-Lammerding et al. (2015), uma quantidade variável dessas enzimas pode estabilizar-se em coloides do solo como uma forma abiótica. Contudo, a baixa presença de cargas do solo ( $CTC < 3,0 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ) e matéria orgânica podem ter reduzido a persistência dessas exoenzimas. Assim, em solos arenosos, a atividade enzimática pode ser muito sensível ao manejo, especialmente à disposição de resíduos (ACOSTA-MARTÍNEZ et al., 2003).

A adição de vinhaça enriquecida aumentou em 1,3 vezes a atividade de  $\beta$ -glicosidase quando comparado ao controle. A vinhaça é um material orgânico rico em carbono facilmente decomponível e com baixa relação C:N (<20). Parnaudeau et al. (2008) demonstraram que >80% do carbono orgânico da vinhaça é solúvel em ácido, o que favorece o ataque microbiano para obtenção de energia proveniente desse resíduo orgânico. Em contrapartida, estudos conduzidos por Günal et al. (2018) ao avaliarem o efeito da aplicação de biochar produzido a partir de diferentes resíduos vegetais, encontraram decréscimos na atividade de  $\beta$ -glicosidase após 220 dias da adição de biochar de alta relação C:N (>100).

Com a adição de ureia, não houve interferências na atividade da  $\beta$ -glicosidase. Em contraste, vários estudos descobriram que uma maior disponibilidade de N mineral promoveu a produção de enzimas extracelulares envolvidas no ciclo C (CARREIRO et al., 2000; GEISSELER E HORWATH, 2009; GEISSELER E SCOW, 2014). No presente estudo, não foi analisado o teor de C e N na palha de cana-de-açúcar, mas sabe-se que a relação C:N é alta (>50). Vasconcelos et al. (2018) encontraram teor de C e N na palhada de  $420 \text{ g kg}^{-1}$  e  $8,2 \text{ g kg}^{-1}$ , respectivamente. No presente estudo, a quantidade N aplicado foi de  $0,05 \text{ g kg}^{-1}$  solo, o que teve baixo impacto na relação C:N e manteve os processos de imobilização predominantes.

Considerada essencial no ciclo do enxofre, a enzima arilsulfatase tem como função primária hidrolisar ésteres sulfato a fenóis e liberar enxofre para plantas e microrganismos (KHADEM et al., 2019). A atividade de arilsulfatase no solo não foi influenciada pela adição de fertilizante nitrogenado e/ou vinhaça. Contudo, houve diferença significativa entre a adição vinhaça+ureia+NBPT e o uso de ureia de sólida. Postulou-se assim, que a diferença pode ter ocorrido devido as perdas de N para a atmosfera e permanência do carbono da ureia no sistema. Baligar e Wright (1991) relataram um baixo nível de atividades de arilsulfatase em solos que continham quantidades relativamente baixas de C, N, P e S orgânicos. Em contrapartida, o aumento na atividade de arilsulfatase com adição de vinhaça enriquecida com ureia e NBPT pode estar relacionado ao teor de matéria orgânica complexada com enxofre na vinhaça e aos teores de tiosfato presentes no inibidor de urease. Contudo, não houve diferenças entre a aplicação de V+Ur, V+Ur+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> e o controle, o que anula hipótese proposta.

## 6 CONCLUSÕES

A diluição da ureia na vinhaça é uma estratégia eficiente de manejo agrícola para redução da volatilização de NH<sub>3</sub>.

Não houve efeito positivo da adição de NBPT ou H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> para a redução das perdas de NH<sub>3</sub> neste sistema de aplicação de vinhaça enriquecida.

O uso de vinhaça enriquecida com ureia incrementou à curto prazo a atividade de  $\beta$ -glicosidase, porém, não houve alterações na atividade de arilsulfatase.

A alta atividade de urease na palha e a porcentagem de N retido na palha apresentaram grande influência na volatilização de NH<sub>3</sub> proveniente da aplicação de ureia sólida.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDO, A. I.; XU, Y.; SHI, D.; LI, J.; LI, H.; EL-SAPPAH, A. H.; ELRYS, A. S.; ALHARBI, S. A.; ZHOU, C.; WANG, L.; KUZYAKOV, Y. Nitrogen transformation genes and ammonia emission from soil under biochar and urease inhibitor application. **Soil and Tillage Research**, v. 223, n. February, p. 105491, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.still.2022.105491>.
- ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; ZOBECK, T. M.; GILL, T. E.; KENNEDY, A. C. Enzyme activities and microbial community structure in semiarid agricultural soils. **Biology & Fertility of Soils**, v. 38, p. 216-227, 2003.
- ADETUNJI, A. T.; NCUBE, B.; MULIDZI, R.; LEWU, F. B. Potential use of soil enzymes as soil quality indicators in agriculture. In: S. K. Nayak & B. B. Mishra (Eds.), **Frontiers in soil and environmental microbiology**, Florida: CRC Press LLC., p. 57-64, 2020.
- ALMEIDA, R. F.; SILVEIRA, C. H.; MOTA, R. P.; MOITINHO, M.; ARRUDA, E. M.; MENDONÇA, E. D. S.; SCALA, N. L.; WENDLING, B. For how long does the quality and quantity of residues in the soil affect the carbon compartments and CO<sub>2</sub>-C emissions?. **Journal of Soils and Sediments**, v. 16, p. 2354-2364, 2016.
- ALVES, A. C.; OLIVEIRA, P. P. A.; HERLING, V. R.; TRIVELIN, P. C. O.; LUZ, P. H. C.; ALVES, T. C.; ROCHETTI, R. C.; BARIONI JÚNIOR, W. New methods to quantify NH<sub>3</sub> volatilization from fertilized surface soil with urea. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 133-140, 2011.
- ANDA – Associação Nacional para Difusão de Adubos. **Pesquisa setorial: macro indicadores**. 2022. Disponível em: < [http://anda.org.br/pesquisa\\_setorial/](http://anda.org.br/pesquisa_setorial/)>. Acesso em maio de 2022.
- ANTIL, R. S.; MAHATA, M. K.; NARWAL, R. P. Effect of substrate concentration, soil moisture, and organic materials on urease activity of soil contaminated with lead. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 52, n. 1, p. 61–68, 2006.
- AWALE, R.; CHATTERJEE, A. Enhanced efficiency nitrogen products influence ammonia volatilization and nitrous oxide emission from two contrasting soils. **Agronomy Journal**, v. 109, 2017.
- BALIGAR, V. C.; WRIGHT, R. J. Enzyme Activities in Appalachian Soils. 1. Arylsulfatase. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 22, v. 305–314, 1991.
- BALIGAR, V. C.; WRIGHT, R. J.; HERN, J. L. Enzyme activities in soil influenced by levels of applied sulfur and phosphorus. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 36, n. 13–14, p. 1727–1735, 2005.
- BARTH, G.; OTTO, R.; MIRA, A. B.; FERRAZ-ALMEIDA, R.; VITTI, A. C.; CANTARELLA, H.; VITTI, G. C. Performance of enhanced efficiency nitrogen fertilizers in green-harvesting sugarcane. **Agrosystems, Geosciences and Environment**, v. 3, n. 1, p. 1–10, 2020.

- BOGATI, K.; WALCZAK, M. The Impact of Drought Stress on Soil Microbial Community, Enzyme Activities and Plants. **Agronomy**, v. 12, n. 1, p. 189, 2022. <https://doi.org/10.3390/agronomy12010189>
- BORDONAL, R. O.; CARVALHO, J. L. N.; LAL, R.; FIGUEIREDO, E. B.; OLIVEIRA, B. G.; LA SCALA JUNIOR, N. Sustainability of sugarcane production in Brazil. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 38, n. 13, 2018.
- BORGES, C. D.; et al. Can alternative N-fertilization methods influence GHG emissions and biomass production in sugarcane fields? **Biomass and Bioenergy**, v. 120, p. 21-27, 2019.
- BRITO, A. S.; LIBARDI, P. L.; GHIBERTO, P. J. Componentes do balanço de água no solo com cana-de-açúcar, com e sem adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 295-303, 2009.
- CANCELLIER, E. L.; SILVA, D. R. G.; FAQUIN, V.; GONÇALVES, B. D. A.; CANCELLIER, L. L.; SPEHAR, C. R. Ammonia volatilization from enhanced-efficiency urea on no-till maize in brazilian cerrado with improved soil fertility. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 40, n. 2, p. 133-144, 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/1413-70542016402031115>
- CANTARELLA, H.; OTTO, R.; SOARES, J. R.; SILVA, A. G. B. Agronomic efficiency of NBPT as a urease inhibitor: A review. **Journal of Advanced Research**, v. 13, p. 19–27, 2018.
- CANTARELLA, H. QUAGGIO, J. A.; MATTOS JUNIOR, D.; BOARETTO, R. M.; VAN RAIJ, B. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Instituto Agrônômico de Campinas (eds.), 2022.
- CARDOSO, E. N. L.; COELHO, A. P.; FERNANDES, C. What Are the Impacts of Long-Term Vinasse Application on Clayey and Sandy Soils? **Sugar Tech**, v. 24, n. 2, p. 602–613, 2022.
- CARMONA, G. C. B. C.; CHRISTIANSON, C. B.; BYRNES, B. H. Temperature and low concentration effects of the urease inhibitor N-(n-butyl) thiophosphoric triamide (nBTPT) on ammonia volatilization from urea. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 22, n. 7, p. 933-937, 1990.
- CARPANEZ, T. G.; MOREIRA, V. R.; ASSIS, I. R.; AMARAL, M. C. S. Sugarcane vinasse as organo-mineral fertilizers feedstock: Opportunities and environmental risks. **Science of the Total Environment**, v. 832, n. 2, 2022.
- CARREIRO, M. M.; SINSABAUGH, R. L.; REPERT, D. A.; PARKHURST, D. F. Microbial enzyme shifts explain litter decay responses to simulated nitrogen deposition. **Ecology**, v. 81, p. 2359-2365, 2000.
- CARRILHO, E. N. V. M.; LABUTO, G.; KAMOGAWA, M. Y. Destination of vinasse, a residue from alcohol industry. **Environmental Materials and Waste**, p. 21–43, 2016.

CASSIM, B. M. A. R.; KACHINSKI, W. D.; BESEN, M. R.; CONEGLIAN, C. F.; MACON, C. R.; PASCHOETO, G. F.; INOUE, T. T.; BATISTA, M. A. Duromide increase nbpt efficiency in reducing ammonia volatilization loss from urea. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 45, p. 1–12, 2021.

CASSMAN, N. A.; LOURENÇO, K. S.; CARMO, J. B.; CANTARELLA, H.; KURAMAE, E. E. Genome-resolved metagenomics of sugarcane vinasse bacteria. **Biotechnol Biofuels**, v. 11, n. 48, 2018.

CHENG, Y.; ELRYS, A. S.; WANG, J.; XU, C.; NI, K.; ZHANG, J.; WANG, S.; CAI, Z.; PACHOLSKI, A. Application of enhanced-efficiency nitrogen fertilizers reduces mineral nitrogen usage and emissions of both N<sub>2</sub>O and NH<sub>3</sub> while sustaining yields in a wheat-rice rotation system. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 324, n. July 2021, p. 107720, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107720>.

CHERUBIN, M. R.; CARVALHO, J. L. N.; CERRI, C. E. P.; NOGUEIRA, L. A. H.; SOUZA, G. M.; CANTARELLA, H. Land use and management effects on sustainable sugarcane-derived bioenergy. **Land**, v. 10, n. 72, 2021.

CHRISTIANSON, C. B.; BAETHGEN, W. E.; CARMONA, G.; HOWARD, R. G. Microsite reactions of urea-NBPT fertilizer on the soil surface. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 25, n. 8, p. 1107–1117, 1993.

CHRISTOFOLETTI, C. A.; ESCHER, J. P.; CORREIA, J. E.; MARINHO, J. F. U.; FONTANETTI, C. S. Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use. **Waste Management**, v. 33, p. 2752–2761, 2013.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO - CETESB. **Norma Técnica P4.231: Vinhaça – Critérios e procedimentos para aplicação no solo agrícola**. 3. ed. 2. versão. São Paulo: CETESB, 2015. 15p.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar**. Quarto levantamento, v. 11, n. 4 p. 1-53, 2024. Acesso em agosto de 2024

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Série histórica – custos – cana-de-açúcar – 2008 a 2021**. 2021. Disponível em < <https://www.conab.gov.br/info-agro/custos-de-producao/planilhas-de-custo-de-producao/item/16462-serie-historica-custos-cana-de-acucar-2008-a-2021>>. Acesso em maio de 2022.

CRUSCIOL, C. A. C.; CAMPOS, M.; MARTELLO, J. M.; ALVES, C. J.; NASCIMENTO, C. A. C.; PEREIRA, J. C. R.; CANTARELLA, H. Organomineral fertilizer as source of P and K for sugarcane. **Scientific Reports**, v. 10, 2020.

DEGASPARI, I. A. M.; SOARES, J. R.; MONTEZANO, Z. F.; DEL GROSSO, S. J.; VITTI, A. C.; ROSSETTO, R.; CANTARELLA, H. Nitrogen sources and application rates affect emissions of N<sub>2</sub>O and NH<sub>3</sub> in sugarcane. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 116, n. 3, p. 329–344, 2020.

DIAS, H. B.; SENTELHAS, P.C. Sugarcane yield gap analysis in Brazil – A multi-model approach for determining magnitudes and causes. **Science of the Total Environment**, v. 637-638, p. 1127-1136, 2018.

DONG, L.; CÓRDOVA-KREYLOS, A. L.; YANG, J.; YUAN, H.; SCOW, K. M. Humic acids buffer the effects of urea on soil ammonia oxidizers and potential nitrification. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, n. 8, p. 1612–1621, 2009.

ENGEL, R. E.; TOWEY, B. D.; GRAVENS, E. Degradation of the Urease Inhibitor NBPT as Affected by Soil pH. **Soil Science Society of America Journal**, v. 79, n. 6, p. 1674–1683, 2015.

FAO – Food and Agriculture Organization. **Crops and livestock products**. 2020. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>>. Acesso em maio de 2023.

FAO - Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. **Statistical Pocketbook 2023: World Food and Agriculture**. Roma, 2023. Disponível em: <http://www.fao.org/statistics/pocketbook>. Acesso em: 26 set. 2024.

FRANCO, H. C. J.; TRIVELIN, P. C. O.; FARONI, C. E.; VITTI, A. C.; OTTO, R. Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer under Brazilian field conditions. **Field Crops Research**, v. 121, n. 1, p. 29-41, 2011.

FUESS, L. T.; GARCIA, M. L. Implications of stillage land disposal: a critical review on the impacts of fertigation. **J. Environ. Manage.**, v. 145, p. 210–229, 2014.

GALLUCCI, A. D.; NATERA, M.; MOREIRA, L. A.; NARDI, K. T.; ALTARUGIO, L. M.; DE MIRA, A. B.; DE ALMEIDA, R. F.; OTTO, R. Nitrogen-Enriched Vinasse as a Means of Supplying Nitrogen to Sugarcane Fields: Testing the Effectiveness of N Source and Application Rate. **Sugar Tech**, v. 21, n. 1, p. 20–28, 2019.

GARCÍA-RUIZ, R.; OCHOA, V.; HINOJOSA, M. B.; CARREIRA, J. A. Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 9, p. 2137-2145, 2008.

GASPAROTTO, L. G.; ROSA, J. M.; GRASSINI, P.; MARIN, F. R. Developing an operational framework to diagnose yield gaps in commercial sugarcane mills. **Field Crops Research**, v. 278, 2022.

GEISSELER, D.; HORWATH, W. R. Relationship between carbon and nitrogen availability and extracellular enzyme activities in soil. **Pedobiologia**, v. 53, p. 87-98, 2009.

GEISSELER, D.; SCOW, K. M. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms - A review. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 75, p. 54–63, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.03.023>.

GHIBERTO, P. J.; LIBARDI, P. L.; BRITO, A. S.; TRIVELI, P. C. O. Leaching of nutrients from a sugarcane crop growing on an Ultisol in Brazil. **Agricultural Water Management**, v. 96, p. 1443–1448, 2009.

GODLEWSKA, A. Sulphur content in test plants and arylsulfatase activity in soil after application of waste materials. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 16, n.1, p. 145-52, 2018. DOI: [http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1601\\_145152](http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1601_145152)

GÜNAL, E.; ERDEM, H.; DEMIRBAŞ, A. Effects of three biochar types on activity of  $\beta$ -glucosidase enzyme in two agricultural soils of different textures. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 64, n. 14, p. 1963–1974, 2018. <https://doi.org/10.1080/03650340.2018.1471205>.

GURUNG, R. B.; OGLE, S. M.; BREIDT, F. J.; WILLIAMS, S.; ZHANG, Y.; DEL GROSSO, S. J.; PARTON, W. J.; PAUSTIAN, K. Modeling ammonia volatilization from urea application to agricultural soils in the DayCent model. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 119, p. 259–273, 2021.

HOGAN, M. E; SWIFT, I. E.; DONE, J. Urease assay and ammonia release from leaf tissues. **Phytochemistry**, v. 22, p. 663–667, 1983. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)86958-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)86958-7)

HOLÍK, L.; HLISNIKOVSÝ, L.; HONZÍK, R.; TRÖGL, J.; BURDOVÁ, H.; POPELKA, J. Soil Microbial Communities and Enzyme Activities after Long-Term Application of Inorganic and Organic Fertilizers at Different Depths of the Soil Profile. **Sustainability**, v. 2019, n. 11, p. 3251. <https://doi.org/10.3390/su11123251>

IQBAL, S., RIAZ, U., MURTAZA, G., JAMIL, M., AHMED, M., HUSSAIN, A., ABBAS, Z. Chemical fertilizers, formulation, and their influence on soil health. *Microbiota and Biofertilizers: A Sustainable Continuum for Plant and Soil Health*, p.1-15, 2021

JIANG, Z. P.; LI, Y. R.; WEI, G. P.; LIAO, Q.; SU, T. M.; MENG, Y. C.; ZHANG, H. Y.; LU, C. Y. Effect of Long-Term Vinasse Application on Physico-chemical Properties of Sugarcane Field Soils. **Sugar Tech**, v. 14, n. 4, p. 412–417, 2012.

KHADEM, A.; BESHARATI, H.; KHALAJ, M. A. Biochar application changed arylsulfatase activity, kinetic and thermodynamic aspects. **European Journal of Soil Biology**, v. 95, n. September, p. 103134, 2019.

LASISI, A. A.; AKINREMI, O. O.; KUMARAGAMAGE, D. Nitrification inhibitor reduces the inhibitory effect of N-(n-butyl) thiophosphoric triamide (NBPT) on the hydrolysis of urea. **Soil Science Society of America Journal**, v. 84, p. 1782–1794, 2020.

LASISI, A. A.; AKINREMI, O. O. Degradation of N-(n-butyl) Thiophosphoric Triamide (NBPT) with and without Nitrification Inhibitor in Soils. **Nitrogen** (Switzerland), v. 3, n. 2, p. 161–169, 2022.

LEAL, M. R. L.; GALDOS, M. V.; SCARPARE, F. V.; SEABRA, J. E.; WALTER, A.; OLIVEIRA, C. O. Sugarcane straw availability, quality, recovery and energy use: A literature review. **Biomass and Bioenergy**, Amsterdam, v. 53, p. 11–19, 2013.

LEASEBURG, E. E., LEI, L. FINK, L. S. Effects of Organic Amendments on Phenol Oxidase, Peroxidase, Urease, and Nitrogen Mineralization: A Laboratory Incubation Study. *Agrochemicals*, v.1, p. 3-16, 2022.

LEI, T.; GU, Q.; GUO, X.; MA, J.; ZHANG, Y.; SUN, X. Urease activity and urea hydrolysis rate under coupling effects of moisture content, temperature, and nitrogen application rate. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, v. 11, n. 2, p. 132–138, 2018.

LI, J.; COOPER, J. M.; LIN, Z.; LI, Y.; YANG, X.; ZHAO, B. Soil microbial community structure and function are significantly affected by long-term organic and mineral fertilization regimes in the North China Plain. **Applied Soil Ecology**, v. 96, p. 75-87, 2015

LI, W.; XIAO, Q.; HU, C.; LIU, B.; SUN, R. A comparison of the efficiency of different urease inhibitors and their effects on soil prokaryotic community in a short-term incubation experiment. **Geoderma**, v. 354, n. February, p. 7–10, 2019.

LOURENÇO, K. S.; ROSSETTO, R.; VITTI, A. C.; MONTEZANO, Z. F.; SOARES, J. R.; SOUSA, R. M.; CARMO, J. B.; KURAMAE, E. E.; CANTARELLA, H. Strategies to mitigate the nitrous oxide emissions from nitrogen fertilizer applied with organic fertilizers in sugarcane. **Science Total Environment**, v. 650, p. 1476–1486, 2019.

MARIANO, A. P.; CRIVELARO, S. H. R.; DE ANGELIS, D. de F.; BONOTTO, D. M. The use of vinasse as an amendment to ex-situ bioremediation of soil and groundwater contaminated with diesel oil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, n. 4, p. 1043–1055, 2009.

MARIANO, E.; TRIVELIN, P. C. O.; VIEIRA, M. X.; LEITE, J. M.; OTTO, R.; FRANCO, H. C. J. Ammonia losses estimated by an open collector from urea applied to sugarcane straw. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, p. 411–419, 2012.

MARTÍN-LAMMERDING, D.; NAVAS, M.; ALBARRÁN, M. del M.; TENORIO, J. L.; WALTER, I. LONG term management systems under semiarid conditions: Influence on labile organic matter,  $\beta$ -glucosidase activity and microbial efficiency. **Applied Soil Ecology**, v. 96, p. 296–305, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.08.021>.

MATTIAZZO, M. E.; DA GLORIA, N. A. Effect of Vinasse on Soil Acidity. **Water Science and Technology**, v. 19, n. 7, p. 1293–1296, 1986.

MAURYA, S.; ABRAHAM, J. S.; SOMASUNDARAM, S.; TOTEJA, R.; GUPTA, R.; MAKHIJA, S. Indicators for assessment of soil quality: a mini-review. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 192, n. 604, 2020 <https://doi.org/10.1007/s10661-020-08556-z>

McCULLOUGH, H. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. **Clinica Chimica Acta**, v. 17, p. 297–304, 1967. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(67\)90133-7](https://doi.org/10.1016/0009-8981(67)90133-7)

MENDES, I. C.; SOUSA, D. M. G.; REIS JUNIOR, F. B.; LOPES, A. A. C.; SOUZA, L. M. Bioanálise de solo: aspectos teóricos e práticos. **Tópicos em Ciência do Solo**, v. 10, p. 399-462, 2019.

- MIRA, A. B.; CANTARELLA, H.; SOUZA-NETTO, G. J. M.; MOREIRA, L. A.; KAMOGAWA, M. Y.; OTTO, R. Optimizing urease inhibitor usage to reduce ammonia emission following urea application over crop residues. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 248, p. 105–112, 2017.
- MODOLO, L. V.; SILVA, C. J.; BRANDÃO, D. S.; CHAVES, I. S. A minireview on what we have learned about urease inhibitors of agricultural interest since mid-2000s. **Journal of Advanced Research**, v. 13, p. 29–37, 2018.
- MONREAL, C. M.; BERGSTROM, D. W. Soil enzymatic factors expressing the influence of land use, tillage system and texture on soil biochemical quality. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 80, n. 3, p. 419-428, 2000.
- MUTTON, M. A.; ROSSETTO, R.; MUTTON, M. J. R. "Agricultural use of stillage", p.423-440. In Luis Augusto Barbosa Cortez (Coord.). Sugarcane bioethanol — R&D for Productivity and Sustainability, São Paulo: Editora Edgard Blücher, 2014.
- NASCIMENTO, C. A. C. do; VITTI, G. C.; FARIA, L. de A.; LUZ, P. H. C.; MENDES, F. L. Ammonia volatilization from coated urea forms. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, n. 4, p. 1057–1063, 2013.
- OLIVEIRA, E. C. A.; OLIVEIRA, R. I.; ANDRADE, B. M. T.; FREIRE, F. J.; LIRA JUNIOR, M. A.; MACHADO, P. R. Crescimento e acúmulo de matéria seca em variedades de cana-de-açúcar cultivadas sob irrigação plena. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, p. 951–960, 2010.
- OLIVEIRA, B. G.; CARVALHO, J. L. N.; CERRI, C. E. P.; CERRI, C. C.; FEIGL, B. J. Greenhouse gas emissions from sugarcane vinasse transportation by open channel: a case study in Brazil. **Journal of Cleaner Production**, v. 94, p. 102– 07, 2015.
- OLIVEIRA, B. G.; LOURENÇO, K. S.; CARVALHO, J. L. N.; GONZAGA, L. C.; TEIXEIRA, M. C.; TAMARA, A. F.; SOARES, J. R.; CANTARELLA, H. New trends in sugarcane fertilization: Implications for NH<sub>3</sub> volatilization, N<sub>2</sub>O emissions and crop yields. **Journal of Environmental Management**, v. 342, n. 5, 2023.
- OTTO, R.; MULVANEY, R. L.; KHAN, S. A.; TRIVELIN, P. C. O. Quantifying soil nitrogen mineralization to improve fertilizer nitrogen management of sugarcane. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, p. 893-904, 2013. <https://doi.org/10.1007/s00374-013-0787-5>
- OTTO, R.; CASTRO, S. A. Q.; MARIANO, E.; CASTRO, S. G. Q.; FRANCO, H. C. J.; TRIVELIN, P. C. O. Nitrogen use efficiency for sugarcanebiofuel production: What is next? **BioEnergy Research**, v. 9, n. 4, p. 1272–1289, 2016.
- OTTO, R.; FREITAS JÚNIOR, J. C. M.; ZAVASCHI, E.; FARIA, I. K. P.; PAIVA, L. A.; BAZANI, J. H.; MIRA, A. B.; KAMOGAWA, M. Y. Combined application of concentrated vinasse and nitrogen fertilizers in sugarcane: Strategies to reduce ammonia volatilization losses. **Sugar Tech**, v. 19, p. 248–257, 2017a.

OTTO, R.; ZAVASCHI, E.; DE SOUZA NETTO, G. J. M.; MACHADO, B. de A.; DE MIRA, A. B. Ammonia volatilization from nitrogen fertilizers applied to sugarcane straw. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 48, n. 3, p. 413–418, 2017b.

OTTO, R.; SOUZA-NETTO, G. J. M.; FERRAZ-ALMEIDA, R.; ALTARUGIO, L. M.; FAVARIN, J. L. Multisite response of sugarcane to nitrogen rates and split application under Brazilian field conditions. **Agronomy Journal**, v. 113, p. 419-435, 2021.

PAN, B., LAM, S.K., MOSIER, A., LUO, Y., CHEN, D. Ammonia volatilization from synthetic fertilizers and its mitigation strategies: a global synthesis. **Agriculture Ecosystems and Environment**, v. 232 p 283-289, 2016.

PARNAUDEAU, V.; CONDOM, N.; OLIVER, R.; CAZEVIEILLE, P.; RECOUS, S. Vinasse organic matter quality and mineralization potential, as influenced by raw material, fermentation and concentration processes. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 1553–1562, 2008.

PAZ-PINO, O. L.; BARBA-HO, L. E.; MARRIAGA-CABRALES, N. Vinasse treatment by coupling of electro-dissolution, hetero-coagulation and anaerobic digestion. **Dyna**, v. 81, p. 102–107, 2014.

PINHEIRO, P. L.; RECOUS, S.; DIETRICH, G.; WEILER, D. A.; GIOVELLI, R. L.; MEZZALIRA, A. P.; GIACOMINI, S. J. Straw removal reduces the mulch physical barrier and ammonia volatilization after urea application in sugarcane. **Atmospheric Environment**, v. 194, n. 5, p. 179–187, 2018.

POKHAREL, P.; MA, Z.; CHANG, S. X. Biochar increases soil microbial biomass with changes in extraand intracellular enzyme activities: a global meta-analysis. **Biochar**, v. 2, p. 65-79, 2020. <https://doi.org/10.1007/s42773-020-00039-1>

REIS, C. E. R.; HU, B. Vinasse from sugarcane ethanol production: Better treatment or better utilization? **Front. Energy Res**, v. 5, p. 1–7, 2017.

RESENDE, A. S.; XAVIER, R. P.; OLIVEIRA, O. C.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Long-term effects of pre-harvest burning and nitrogen and vinasse applications on yield of sugar cane and soil carbon and nitrogen stocks on a plantation in Pernambuco, N.E. Brazil. **Plant and Soil**, v. 281, p. 339–351, 2006.

ROCHETTE, P.; ANGERS, D. A.; CHANTIGNY, M. H.; MACDONALD, J. D.; BISSONNETTE, N.; BERTRAND, N. Ammonia volatilization following surface application of urea to tilled and no-till soils: A laboratory comparison. **Soil and Tillage Research**, v. 103, n. 2, p. 310–315, 2009.

ROCHETTE, P.; ANGERS, D. A.; CHANTIGNY, M. H.; GASSER, M-G.; MACDONALD, J. D.; PELSTER, D. E.; BERTRAND, N. Ammonia Volatilization and Nitrogen Retention: How Deep to Incorporate Urea? **Journal of Environmental Quality**, v. 42, p. 1635–1642, 2013.

- RODRIGUES, J. M.; LASA, B.; APARICIO-TEJO, P. M.; GONZÁLEZ-MURUA, C.; MARINO, D. 3,4-Dimethylpyrazole phosphate and 2-(N-3,4-dimethyl-1H-pyrazol-1-yl) succinic acid isomeric mixture nitrification inhibitors: Quantification in plant tissues and toxicity assays. **Science of the Total Environment**, v. 624, p. 1180–1186, 2018.
- RUSER, R.; SCHULZ, R. The effect of nitrification inhibitors on the nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) release from agricultural soils—a review. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 178, p. 171–188, 2015. <https://doi.org/10.1002/jpln.201400251>.
- SAN FRANCISCO, S.; URRUTIA, O.; MARTIN, V.; PERISTEROPOULOS, A.; GARCIA-MINA, J. M. Efficiency of urease and nitrification inhibitors in reducing ammonia volatilization from diverse nitrogen fertilizers applied to different soil types and wheat straw mulching. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 9, p. 1569–1575, 2011.
- SIGURDARSON, J. J.; SVANE, S.; KARRING, H. The molecular processes of urea hydrolysis in relation to ammonia emissions from agriculture. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 17, n. 2, p. 241–258, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11157-018-9466-1>.
- SILVA, A.; ROSSETTO, R.; BONNECINE, J.; PIEMONTE, M.; MURAOKA, T. Net and potential nitrogen mineralization in soil with sugarcane vinasse. **Sugar Tech**, v. 15, n. 2, p. 159–164, 2013.
- SILVA, A. P. M.; BONO, J. A. M.; PEREIRA, F. A. R. Aplicação de vinhaça na cultura da cana-de-açúcar: Efeito no solo e na produtividade de colmos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, p. 38-43, 2014.
- SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solo, plantas e fertilizantes**. ed. téc. Fábio Cesar da Silva. 2. ed. rev. e ampl. – Embrapa Informação Tecnológica. 627 p. Brasília, DF: 2009.
- SILVA, G. J.; RIVADAVEA, W. R.; LIMA, J. D.; MONTEIRO, P. H. R.; SILVA, F. B. Microbial enzymes and soil health. In: MOHAMED, H. I.; EL-BELTAGI, H. E. D. S.; ABD-ELSALAM, K. A. (eds) *Plant Growth-Promoting Microbes for Sustainable Biotic and Abiotic Stress Management*. **Springer, Cham.**, p. 133-55, 2020 [https://doi.org/10.1007/978-3-030-66587-6\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-030-66587-6_6)
- SILVA, J. F.; CARVALHO, A. M.; REIN, T. A.; COSER, T. R.; RIBEIRO JÚNIOR, W. Q.; VIEIRA, D. L.; COOMES, D. A. Nitrous oxide emissions from sugarcane fields in the Brazilian Cerrado. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 246, p. 55–65, 2017.
- SOARES, J. R.; CANTARELLA, H.; MENEGALE, M. L. C. Ammonia volatilization losses from surface-applied urea with urease and nitrification inhibitors. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 52, p. 82-89, 2012.
- SPIRONELLO, A. et al. **Outras culturas industriais**, in Rajj, B. van, Cantarella, H., Quaggio, J. A., Furlani, A. M. C.: *Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo*. 2nd edn., IAC, Campinas, p. 233–239. 1997.

SUBBARAO, G. V.; NAKAHARA, K.; HURTADO, M. P.; ONO, H.; MORETA, D. E.; SALCEDO, A. F.; YOSHIHASHI, A. T.; ISHIKAWA, T.; ISHITANI, M.; OHNISHI-KAMEYAMA, M.; YOSHIDA, M.; RONDON, M.; RAO, I. M.; LASCANO, C. E.; BERRY, W. L.; ITO, O. Evidence for biological nitrification inhibition in *Brachiaria* pastures. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, p. 17302–17307, 2009.

SUNDERLAGE, B.; COOK, R. L. Soil Property and Fertilizer Additive Effects on Ammonia Volatilization from Urea. **Soil Science Society of America Journal**, v. 82, p. 253–259, 2018.

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

TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Assay of urease activity in soils. **Soil biology and Biochemistry**, v. 4, n. 4, p. 479–487, 1972.

TABATABAI, M. A. Soil enzymes. In *Methods of Soil Analysis. Part 2. Microbiological and Biochemical Properties*; Weaver, R.W., Angle, S., Bottomley, P., Bezdieck, D., Smith, S., Tabatabai, A. and Wollum, A., eds.; **Soil Science Society of America**: Madison, Wisconsin, Book Series N. 5, p. 775–833. 1994.

TEIXEIRA, P. C. **Manual de métodos de análise de solo**. eds. téc. Paulo Cesar Teixeira [et al.], 3. 29 ed. rev. e ampl. – Embrapa Informação Tecnológica. 573 p. Brasília, DF: 2017.

TEJADA, M.; MORENO, J. L.; HERNANDEZ, M. T.; GARCIA, C. Application of two beet vinasse forms in soil restoration: Effects on soil properties in an arid environment in southern Spain. **Agriculture Ecosystems and Environment**, v. 119, p. 289–298, 2007.  
doi:10.1016/j.agee.2006.07.019

UNFCCC - United Nations Framework Convention on Climate. **Nationally determined contribution (NDC)**. 2022. Disponível em:  
<<https://www4.unfccc.int/sites/NDCStaging/Pages/Party.aspx?party=BRA>>. Acesso em maio de 2022.

VASCONCELOS, A. L. S.; CHERUBIN, M. R.; FEIGL, B. F.; CERRI, C. E. P.; GMACH, M. R.; SIQUEIRA-NETO, M. Greenhouse gas emission responses to sugarcane straw removal. **Biomass and Bioenergy**, v. 113, p. 15–21, 2018.

VIEIRA-MEGDA, M. X.; MARIANO, E.; LEITE, J. M.; FRANCO, H. C. J.; VITTI, A. C.; MEGDA, M. M.; KHAN, S. A.; MULVANEY, R. L.; TRIVELIN, P. C. O. Contribution of fertilizer nitrogen to the total nitrogen extracted by sugarcane under Brazilian field conditions. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 101, n. 2, p. 241–257, 2015.

WATSON, C. J.; AKHONZADA, N. A.; HAMILTON, J. T. G.; MATTHEWS, D. I. Rate and mode of application of the urease inhibitor N-(n-butyl) thiophosphoric triamide on ammonia volatilization from surface-applied urea. **Soil Use and Management**, v. 24, n. 3, p. 246–253, 2008.

YAO, R., LI, H., YANG, J., YIN, C., WANG, X., XIE, W., ZHANG, X. Interactive effects of amendment materials and soil salinity on net rates of urea hydrolysis and nitrification in salt-affected soil. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, v.21, p. 3414-3427, 2021.

YIN, J.; DENG, C. B.; WANG, X. F.; CHEN, G. lin; MIHUCZ, V. G.; XU, G. P.; DENG, Q. C. Effects of Long-Term Application of Vinasse on Physicochemical Properties, Heavy Metals Content and Microbial Diversity in Sugarcane Field Soil. **Sugar Tech**, v. 21, n. 1, p. 62–70, 2019.

ZHANG, L.; CHEN, X.; XU, Y.; JIN, M.; YE, X.; GAO, H.; CHU, W.; MAO, J.; THOMPSON, M. L. Soil labile organic carbon fractions and soil enzyme activities after 10 years of continuous fertilization and wheat residue incorporation. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–10, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68163-3>.

ZHAO, R.; LIU, J.; XU, N.; HE, T.; MENG, J.; LIU, Z. Urea hydrolysis in different farmland soils as affected by long-term biochar application. **Frontiers in Environmental Science**, v. 10, n. 8, p. 1–13, 2022.

**APÊNDICE A – TEMPERATURA DA VINHAÇA NO MOMENTO DA COLETA.**



**APÊNDICE B – BASE DA CÂMARA DE COLETA DE NH<sub>3</sub> INSERIDA A 3 CM DE PROFUNDIDADE NO SOLO.**



**ANEXO A – UMIDADE DO SOLO REFERENTE AO PERÍODO DE CONDUÇÃO EXPERIMENTAL.**