

Crescimento de *Eucalyptus urophylla* em Meio Hidropônico com Diferentes Proporções de Nitrato e Amônio

Maycon Murilo Castro Guimarães¹, Paulo Araquém Ramos Cairo¹,
Orlando Sílvio Caires Neves²

¹Departamento de Fitotecnia e Zootecnia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Vitória da Conquista/BA, Brasil

²Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal da Bahia – UFBA, Vitória da Conquista/BA, Brasil

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar respostas fisiológicas e crescimento de plantas jovens de *Eucalyptus urophylla* em meio hidropônico, num delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco proporções de NO_3^- e NH_4^+ (0/100, 25/75, 50/50, 75/25 e 100/0) e quatro repetições. As proporções $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ afetaram o crescimento inicial, alterando o acúmulo de massa seca, o índice de qualidade de Dickson, o índice SPAD e os teores de macronutrientes foliares. A proporção 75/25 foi a que mais favoreceu o crescimento das plantas, com base na expansão dos tecidos e no acúmulo de massa seca. Contudo, as proporções de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ não causaram alterações significativas em alguns aspectos fisiológicos, tais como fotossíntese líquida e trocas gasosas. As proporções de NO_3^- e NH_4^+ alteraram o pH das soluções hidropônicas, a atividade da redutase do nitrato e o estado nutricional das plantas, sem, contudo, apresentar sintomas visíveis de carência ou excesso de macronutrientes nas folhas.

Palavras-chave: plantas lenhosas, nitrogênio, nutrição mineral.

Growth of *Eucalyptus urophylla* in Hydroponic Medium with Different Ratios of Nitrate and Ammonium

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the physiological responses and growth of *Eucalyptus urophylla* young plants, clone AEC0144, in hydroponic medium, in a completely randomized experimental design with five different ratios of NO_3^- and NH_4^+ (0/100, 25/75, 50/50, 75/25 and 100/0) and four replications. The $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratios analyzed affected the initial growth of plants by changing the dry mass accumulation, Dickson quality index, SPAD index, and leaf macronutrient content. Plant growth was particularly favored by the 75/25 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratio, based on tissue expansion and dry matter accumulation. However, the $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratios didn't cause significant change in some physiological aspects, such as net photosynthesis and nitrogen assimilation metabolism. The $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratios affected the pH of nutrient solutions, nitrate reductase activity and plant nutritional status, but no visible symptoms of deficiency or excess of macronutrients were detected in the leaves.

Keywords: woody plants, nitrogen, mineral nutrition.

1. INTRODUÇÃO

Na região sudoeste da Bahia, onde são comuns os períodos prolongados de seca, o clone AEC0144 de *Eucalyptus urophylla* tem se revelado como promissor, diante dessa condição climática (Fernandes, 2012). O sucesso de plantios de eucalipto se deve, em grande parte, à qualidade nutricional das mudas. De igual importância nutricional é a disponibilidade da forma do nitrogênio (N), que é absorvido do solo principalmente sob as formas iônicas de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+). Além da quantidade de N presente no solo, a proporção de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ é um fator que pode influenciar no crescimento e no desenvolvimento das plantas (Britto & Kronzucker, 2002), inclusive em relação à qualidade de mudas e ao seu desempenho no campo (Kronzucker et al., 1997).

O suprimento de N sob diferentes formas iônicas causa efeitos complexos sobre o crescimento e o metabolismo da planta (Guo et al., 2012), e pode acarretar respostas fisiológicas positivas e negativas (Bartelheimer & Poschlod, 2013). Na planta, a enzima redutase de nitrato (RN) reduz NO_3^- a NO_2^- , ao passo que a redutase de nitrito (RNi) reduz esse último íon a NH_4^+ , para sua posterior incorporação a compostos orgânicos, cuja sequência de reações requer grande consumo de equivalentes redutores (Hachiya et al., 2007).

A assimilação de N, quando absorvido sob a forma de N-NH_4^+ , demanda menor quantidade de energia, pois dispensa as fases de redução, que são requeridas quando ocorre absorção de N-NO_3^- (Hachiya et al., 2012). Contudo, o NH_4^+ pode ser citotóxico em alta concentração, causando clorose, além de redução do crescimento, se comparado ao NO_3^- em igual concentração (Walch-Liu et al., 2001; Britto & Kronzucker, 2002; Miller & Cramer, 2005).

Em geral, os efeitos negativos do NH_4^+ são associados à acidificação da rizosfera, à menor absorção de outros cátions (competição por NH_4^+), ao desequilíbrio hormonal e à depleção de ácidos orgânicos requeridos para a síntese de aminoácidos (Britto & Kronzucker, 2002; Roosta & Schjoerring, 2007; Hachiya et al., 2012). Segundo Britto et al.

(2001), a toxicidade do NH_4^+ em plantas também se deve ao alto consumo de energia para o efluxo desse íon, mantendo baixa a sua concentração no citosol da célula. Alguns estudos apontam que a combinação de NO_3^- e NH_4^+ pode diminuir a toxidez desse último íon em algumas espécies, tais como *Triticum aestivum* L., *Lycopersicon esculentum*, *Zea mays* L., *Arabidopsis thaliana* e *Ceratonia siliqua* L. (Britto & Kronzucker, 2002; Garnica et al., 2009; Hachiya et al., 2012).

A eficiência na utilização dessas formas iônicas de N varia amplamente entre espécies arbóreas (Koyama & Tokuchi, 2003; Walecka-Hutchison & Walworth, 2007). Em geral, plantas que se desenvolvem em solos com pH ácido preferem o NH_4^+ como fonte de N, enquanto plantas que se desenvolvem em solos com pH neutro a alcalino têm leve tendência a preferir o NO_3^- (Bartelheimer & Poschlod, 2013). Estudos realizados com diferentes espécies de eucalipto – como *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus regnans* e *Eucalyptus nitens* – registraram maior assimilação de N quando este é absorvido preferencialmente sob a forma de NH_4^+ (Shedley et al., 1995; Garnett & Smethurst, 1999; Pfautsch et al., 2009).

Pesquisas conduzidas por Hachiya et al. (2012) com *Arabidopsis thaliana* crescidas em meio com NO_3^- e NH_4^+ indicam que o NO_3^- atua como um sinalizador capaz de minimizar a toxidez do NH_4^+ , por induzir a síntese de enzimas para a produção de citocininas (Takei et al., 2004) que, por sua vez, medeiam alguns eventos de sinalização do NO_3^- (Sakakibara et al., 2006). Rahayu et al. (2005) constataram que a concentração de citocininas ativa é menor em folhas e xilema das plantas cultivadas com NH_4^+ como única fonte de N, quando comparadas com as plantas que foram cultivadas apenas com NO_3^- . Isto sugere que o NO_3^- pode contribuir para mais um mecanismo que atenua a toxicidade do excesso de NH_4^+ (Hachiya et al., 2012).

Tendo em vista as múltiplas respostas de plantas de eucalipto às formas iônicas de N no ambiente de cultivo, o presente estudo teve como objetivo avaliar características associadas ao crescimento e à fisiologia de plantas jovens do clone AEC0144, cultivadas em meio hidropônico, com diferentes proporções de NO_3^- e NH_4^+ .

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi realizado em casa de vegetação, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), *campus* de Vitória da Conquista, no período de outubro de 2011 a fevereiro de 2012.

Aos 30 dias de idade, mudas do clone AEC0144 foram transferidas para cultivo hidropônico, no qual foram adaptadas inicialmente a uma solução nutritiva (Clark, 1975), em que todos os elementos tiveram força iônica de 33, 50 e 100%, a cada sete dias. Após a adaptação, as mudas foram transplantadas para vasos de 5 L, nos quais foram aplicados os tratamentos com 100% da força iônica (Tabela 1), em que permaneceram por 70 dias. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, com cinco proporções de NO_3^- e NH_4^+ (0/100, 25/75, 50/50, 75/25 e 100/0, respectivamente) e quatro repetições, sempre com doses iguais de N ($N = 7,8 \text{ mmol L}^{-1}$). Cada parcela correspondeu a uma planta por vaso. A solução nutritiva foi renovada a cada dez dias e mantida sob aeração constante durante todo o período experimental, bem como foi mantido o volume dos vasos sempre em cinco litros, pela reposição diária com água deionizada. Após a troca da solução, o pH foi ajustado para $5,25 \pm 0,25$

e registrado diariamente, por meio de um pHmetro portátil – Modelo HI 8424.

Ao final do experimento, quando as plantas apresentavam 121 dias de idade, foram avaliados os dados referentes à altura da planta e ao diâmetro do colo. Depois de colhido, o material vegetal foi separado em raízes, caule e folhas. Registrou-se o número de folhas e a área foliar com um integrador de área foliar, de marca LI-COR (modelo 3100). A produção de massa seca total (MST, g planta^{-1}) foi obtida pelo somatório de massas secas de raiz (MSR, g planta^{-1}), caule (MSC, g planta^{-1}) e folhas (MSF, g planta^{-1}). Os componentes vegetais foram secos em estufa de circulação de ar forçada a 70°C , até atingir peso constante. Com os resultados referentes à massa seca, foram calculados os seguintes parâmetros: Quociente de Robustez (RHD), que representa a razão entre a altura da parte aérea e o diâmetro do colo; a razão entre a massa seca da parte aérea e a das raízes (RPAR), e o Índice de Qualidade de Dickson (Dickson et al., 1960), obtido pela Equação 1, que conjuga no seu cálculo diversos parâmetros morfológicos, como altura, diâmetro do colo e o peso de matéria seca.

$$\text{IQD} = \text{MST}/(\text{RHD} + \text{RPAR}) \quad (1)$$

Tabela 1. Composição química (mmol L^{-1}) e fonte de nutrientes empregada no preparo das soluções nutritivas utilizadas em cada tratamento

Table 1. Chemical composition (mmol L^{-1}) and nutrient source used in the preparation of nutrient solutions used in each treatment.

Fontes de Nutrientes	Proporções de $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$					
	Clark (1975)	0/100	25/75	50/50	75/25	100/0
	Composição das soluções hidropônicas - mmol L^{-1}					
KH_2PO_4	0,0	0,07	0,0	0,0	0,0	0,0
KNO_3	1,8	1,73	0,65	0,0	0,0	0,0
KCl	0,0	0,0	1,15	1,8	1,8	1,8
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	5,2	5,2	5,2	3,9	1,95	0,0
CaCl_2	0,0	0,0	0,0	0,65	1,625	2,6
MgSO_4	0,085	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0
MgCl_2	0,515	0,1	0,6	0,6	0,6	0,6
NH_4Cl	0,0	0,0	0,88	2,83	4,78	6,73
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	0,07	0,0	0,07	0,07	0,07	0,07
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,83	0,0	1,0	1,0	1,0	1,0
NaNO_3	0,0	0,87	0,0	0,0	0,0	0,0
NaCl	0,0	0,0	0,87	0,87	0,87	0,87

A solução de micronutrientes teve a seguinte composição (g L^{-1}): $\text{MnSO}_4 \cdot 1\text{H}_2\text{O} = 1,183$; $\text{H}_3\text{BO}_3 = 1,175$; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 0,575$; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 0,145$; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} = 0,125$. Dissolveram-se 33,3 g de $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ em 500 mL de água contendo 100,4 mL de NaOH 1M, misturando-se com 24,9 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, arejando-se por 12 h e completando-se até 1 L com água deionizada.

O estado nutricional das plantas foi avaliado conforme Malavolta et al. (1997). Os teores de N total nas folhas foram determinados pelo método semimicro Kjeldahl. Em extrato da digestão nitroperclórica, foram determinados os teores de P, por colorimetria; de Ca e Mg, por espectrofotometria de absorção atômica; de K, por fotometria de chama, e de S, por turbidimetria.

A atividade enzimática da redutase do nitrato foi determinada pelo método do ensaio *in vivo*, conforme Jaworski (1971), adaptado por Cairo et al. (1994) para plantas arbóreas. Amostras foliares foram subdivididas em fragmentos de aproximadamente 3 mm (0,5 g) e adicionadas a tubos de ensaio contendo 5 mL do meio de incubação, constituído de solução tampão KH_2PO_4 0,1 M, pH 7,5, n-propanol 3% (v/v) e KNO_3 0,1 M. Em seguida, as amostras foram submetidas à infiltração a vácuo (650 mmHg) por dois minutos. Posteriormente, as amostras foram incubadas em banho-maria a 30°C, com agitação, no escuro. Após dez minutos, foram colhidas alíquotas de 1 mL dos ensaios enzimáticos, para determinação dos teores de nitrito produzidos. Cada alíquota foi adicionada a um tubo de ensaio constituído de 1,0 mL de sulfanilamida 1% (p/v) em HCl 1,5 M, 1,0 mL de dicloridrato de N-1-naftiletilenodiamina 0,02% (p/v) e 1,0 mL de água destilada. As leituras espectrofotométricas foram realizadas a 540 nm. A atividade enzimática foi verificada novamente aos 70 minutos, com o intuito de registrar os teores de nitrito produzidos no intervalo de uma hora, subtraindo-se a quantidade de nitrito produzido aos 70 minutos menos a quantidade produzida aos dez minutos. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol NO}_2^- \text{ g de massa fresca}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

As medições de trocas gasosas foram realizadas com um analisador portátil de CO_2 a infravermelho (IRGA LI-6400, LI-COR®, Nebraska/USA). Foram avaliadas as seguintes características: taxa de fotossíntese (A), concentração de CO_2 intracelular (Ci), condutância estomática (Gs) e transpiração (E). A eficiência fotossintética do uso da água (EFUA) foi estimada pela fórmula $\text{EFUA}=\text{A}/\text{E}$. O teor de clorofila das folhas foi avaliado por meio de um medidor portátil (SPAD-502, Minolta, Japão).

Foram aplicados os testes de Cochran e Bartlett, e de Lilliefors, para verificar a homogeneidade das

variâncias e a normalidade da distribuição dos erros, respectivamente. Os resultados foram submetidos à análise de variância e, como ocorreram diferenças significativas pelo teste F ($P<0,05$), aplicou-se o teste de Tukey ($P<0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período experimental, o pH da solução hidropônica contendo apenas NO_3^- como fonte de N aumentou com o tempo (Figura 1), inversamente aos demais tratamentos, cujos valores de pH diminuíram, indicando que o balanço de cargas iônicas, devido às proporções de NO_3^- e NH_4^+ , interfere no pH da solução hidropônica.

A diminuição do pH pode impor um efeito prejudicial à absorção de nutrientes e ao crescimento da planta (Ruan et al., 2007). Há uma estreita relação entre os fluxos de NH_4^+ e H^+ , cujo transporte ativo de prótons, promovido pelo influxo de NH_4^+ , é balanceado por um efluxo de H^+ , necessário para manter o equilíbrio de cargas (Garnett et al., 2001, 2003), promovendo a acidificação do meio externo. A nutrição nitrogenada somente com NO_3^- aumentou o pH da solução porque a absorção desse ânion se dá por cotransporte, em que o influxo de NO_3^- para o interior da célula é acoplado a pelo menos dois H^+ , que também se movem para o citosol, reduzindo a acidez da solução externa (Meharg & Blatt, 1995).

As proporções de NO_3^- e NH_4^+ influenciaram significativamente a massa seca nas diferentes

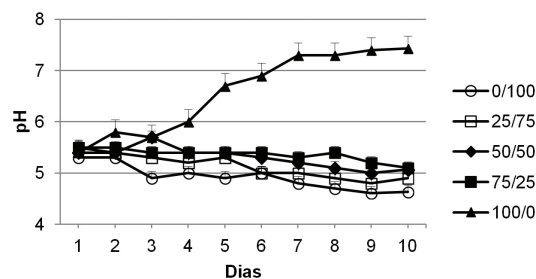


Figura 1. Variação do pH da solução hidropônica, com diferentes proporções de NO_3^- e NH_4^+ , em função do tempo. As barras verticais representam o erro padrão das médias.

Figure 1. Variation of the pH of the hydroponic solution, with different $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratios, as a function of time. Vertical bars represent the standard error of the mean.

partes da planta (Figura 2). A massa seca da parte aérea (folha+haste), nas proporções de 0/100 e 50/50, apresentou os menores incrementos em relação aos demais tratamentos, apesar de diferirem estatisticamente apenas em relação à proporção 75/25. Com relação à massa seca de raiz, o meio com a proporção 75/25 foi mais eficaz no incremento de massa seca.

Na literatura, há registros contraditórios relativos à influência de diferentes proporções de NO_3^- e NH_4^+ sobre a produção de massa seca em eucalipto. Alguns estudos com espécies de eucaliptos registram maior preferência pelo NH_4^+ do que pelo NO_3^- (Shedley et al., 1995; Garnett & Smethurst, 1999; Garnett et al., 2003; Pfautsch et al., 2009). Grespan et al. (1998) estudaram o crescimento de *Eucalyptus urophylla* em meio contendo apenas NH_4^+ e em proporção de NO_3^- e NH_4^+ 50/50, e verificaram maior produção de massa seca do que em cultivo com suprimento de N somente à base de NO_3^- . Em mudas de *Eucalyptus globulus*, Shedley et al. (1995) também observaram maior produção de massa seca da parte aérea em meio com apenas NH_4^+ e diminuição da produção de massa com a adição de NO_3^- . Segundo Bijlsma et al. (2000), a absorção preferencial de NH_4^+ em relação à de NO_3^- pode constituir-se em vantagem, dado o menor gasto de energia metabólica, por não requerer a ação da redutase do nitrato.

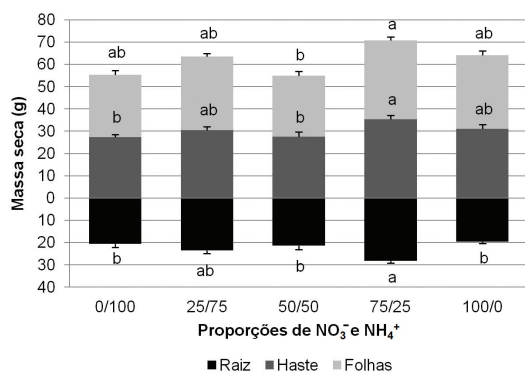


Figura 2. Massa seca de folhas, haste e raiz no clone AEC0144, aos 121 dias de idade, em função das proporções de NO_3^- e NH_4^+ .

Figure 2. Dry weight of leaves, stem and root in AEC 0144 clone, when the plants were 121 days old, depending on the $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratios.

No presente estudo, contudo, a nutrição nitrogenada somente com NH_4^+ produziu menor quantidade de massa seca, comparando-a com os tratamentos em que houve combinação de NO_3^- e NH_4^+ . Este resultado se configura numa tendência contrária à de outros obtidos com o gênero *Eucalyptus*, nos estudos citados anteriormente. Em um estudo avaliando a preferência pela forma de N, Warren (2006) não constataram diferença quanto à absorção de NO_3^- ou NH_4^+ na espécie *Eucalyptus obliqua*. A inibição do crescimento, em resposta à nutrição de N apenas com NH_4^+ , tem sido atribuída principalmente a alterações do pH do meio e aos efeitos tóxicos do NH_4^+ (Ivanova & Staden, 2009). A disponibilidade de nutrientes pode ser afetada pelo baixo pH da solução externa, que limita a absorção da maioria deles quando o pH se torna menor do que 5 (Ruan et al., 2007) e, por conseguinte, restringe o crescimento da planta (Ivanova & Staden, 2009).

O crescimento em altura foi significativamente influenciado pelas proporções de NO_3^- e NH_4^+ (Tabela 2). As tendências de maior e menor altura de plantas foram mais evidentes nas proporções 75/25 (106,0 cm) e 0/100 (86,2 cm), respectivamente. Os resultados sugerem que o crescimento em altura é menos favorecido quando o suprimento de N é feito apenas com NH_4^+ . Na mesma Tabela, verifica-se que as proporções de NO_3^- e NH_4^+ não afetaram o diâmetro do colo, o número de folhas, a área foliar e a relação parte aérea/raiz (RPAR).

Em um estudo avaliando proporções de NO_3^- e NH_4^+ , Grespan et al. (1998) não verificaram respostas significativas quanto à forma iônica de N e seus efeitos sobre a altura de plantas. Contudo, esses autores observaram tendência para maior altura, no meio com proporções iguais de NO_3^- e NH_4^+ . Yao et al. (2011) verificaram que, em *Pinus densata*, nem todas as características são positivamente correlacionadas com o suprimento de N, quando este é feito com base em uma única forma iônica. Segundo esses autores, a produção de biomassa total e biomassa de parte aérea e de raiz, e o comprimento de raiz respondem positivamente ao suprimento de N, seja em meio contendo apenas NO_3^- , seja em combinação com NH_4^+ . No entanto, essa tendência se inverte em relação à altura de plantas, em que os valores mais baixos ocorrem quando o N é fornecido somente como NO_3^- .

Tabela 2. Altura de plantas (H), diâmetro do colo (D), relação parte aérea/raiz (RPAR), relação altura/diâmetro (RHD), Índice de Qualidade de Dickson (IQD), número de folhas (NF) e área foliar (AF) no clone AEC0144, aos 121 dias de idade, cultivado em diferentes proporções $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$

Table 2. Plant height (H), stem diameter (D), shoot/root ratio (RPAR), height/diameter ratio (RHD), Dickson Quality Index (IQD), number of leaves (NF) and leaf area (AF) in clone AEC0144, at 121 days old, grown in different $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$ ratios.

Variáveis	Proporções $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$					CV (%)
	0/100	25/75	50/50	75/25	100/0	
H (cm)	86,2±2,39 ^b	91,0±4,0 ^{ab}	96,7±7,84 ^{ab}	106,0±3,19 ^a	87,7±2,5 ^{ab}	9,45
D (cm)	1,3±0,04 ^a	1,3±0,05 ^a	1,2±0,05 ^a	1,28±0,03 ^a	1,2±0,05 ^a	6,27
NF	152,2±7,1 ^a	178,5±4,6 ^a	159,2±12,1 ^a	177,7±10,6 ^a	148±10,9 ^a	11,64
AF (cm ²)	4558,6±223 ^a	5259,6±174 ^a	4693,1±370 ^a	5502,6±128 ^a	4706,7±164 ^a	9,25
RPAR	2,71±0,17 ^a	2,72±0,21 ^a	2,58±0,14 ^a	2,53±0,2 ^a	3,29±0,2 ^a	13,25
RHD	66,5±2,2 ^b	69,9±1,85 ^{ab}	80,56±5,82 ^{ab}	83,3±3,84 ^a	68,9±0,9 ^{ab}	9,21
IQD	1,1±0,09 ^{ab}	1,2±0,04 ^a	0,91±0,03 ^b	1,15±0,03 ^a	1,15±0,05 ^a	9,42

Os valores são apresentados como médias ± erro padrão da média. Nas linhas, médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Os resultados obtidos mostraram uma tendência de aumento da relação altura/diâmetro (RHD), com o incremento da proporção de NO_3^- na solução, apesar de ocorrer diminuição na RHD quando o NO_3^- é fornecido como única fonte de N. O valor da RHD exprime o equilíbrio de crescimento da planta, porque relaciona dois importantes parâmetros morfológicos – altura da parte aérea e o diâmetro do colo (Carneiro, 1995). Por esta razão, a RHD é também denominada de coeficiente de robustez das plantas, pois, além de refletir o acúmulo de reservas, assegura maior resistência às plantas e tem sido empregada nas avaliações de qualidade de mudas de algumas espécies arbóreas, como *Gliricidia sepium*, *Acacia angustissima*, *Pinus densata*, *Pinus tabuliformis* e *Pinus yunnanensis* (Bayala et al., 2009; Yao et al., 2011).

O Índice de Qualidade de Dickson (IQD) apresentou diferença significativa apenas na proporção 50/50, não sendo significativo nos demais tratamentos. Esse resultado se deve ao fato de que o meio com iguais proporções de NO_3^- e NH_4^+ foi menos eficaz na produção de massa seca. Oliveira Júnior et al. (2011), avaliando a qualidade de mudas de *Eucalyptus urophylla* produzidas em diferentes substratos, afirmam que as mudas com maior IQD são classificadas como de melhor qualidade. Os resultados obtidos no presente estudo, relativos ao IQD, correlacionaram-se com o acúmulo de massa seca nos tratamentos avaliados.

As proporções de NO_3^- e NH_4^+ não afetaram as características associadas às trocas gasosas (Tabela 3). Contudo, o aumento da proporção $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$ resultou em tendência de queda no índice SPAD, registrando diferença significativa entre os tratamentos caracterizados por uma única fonte de N, nos quais as plantas nutridas somente com NH_4^+ apresentaram índice SPAD maior do que o das nutridas somente com NO_3^- . Ruan et al. (2007), trabalhando com *Camellia sinensis*, constataram que os valores do índice SPAD em plantas nutridas com NO_3^- foram menores do que em plantas com NH_4^+ , devido à maior capacidade dessa espécie em assimilar esta última forma iônica. Neste estudo, os resultados mostraram uma tendência de que os maiores teores de N nas folhas acompanham os maiores índices SPAD (Tabela 4).

A atividade da RN nos tratamentos com a presença de NO_3^- foi bastante superior à observada na solução em que o suprimento de N se deu apenas com NH_4^+ (Tabela 3). Nas soluções que continham NO_3^- , isoladamente ou em combinações com NH_4^+ , a atividade da RN não diferiu entre os tratamentos. A redução de NO_3^- a NH_4^+ consome grandes quantidades de equivalentes redutores (Hachiya et al., 2012), mas esse processo tem um papel funcional na manutenção da homeostase redox no citosol, evitando a produção de espécies reativas de oxigênio pelo consumo de equivalentes redutores (Escobar et al., 2006). A absorção de

Tabela 3. Características fisiológicas no clone AEC0144, aos 121 dias de idade, cultivado em diferentes proporções de NO_3^- e NH_4^+ .**Table 3.** Physiological characteristics in clone AEC0144, at 121 days old, grown in different $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratios.

Variáveis	Proporções $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$					CV (%)
	0/100	25/75	50/50	75/25	100/0	
A ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	9,89±0,64 ^{a*}	10,48±0,93 ^a	11,64±0,81 ^a	9,34±0,87 ^a	10,88±2,1 ^a	22,7
Gs ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	0,18±0,01 ^a	0,21±0,04 ^a	0,26±0,01 ^a	0,19±0,04 ^a	0,22±0,08 ^a	41,5
E ($\text{mmol mol}^{-1} \text{s}^{-1}$)	3,01±0,13 ^a	2,92±0,38 ^a	3,8±0,35 ^a	3,0±0,33 ^a	2,86±0,44 ^a	22,0
Ci ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)	236,0±12,8 ^a	241,0±12,7 ^a	249,5±8,8 ^a	240,7±13,6 ^a	233,7±14,4 ^a	10,5
EFUA ($\mu\text{mol CO}_2 \text{mmol H}_2\text{O}^{-1}$)	1,81±0,21 ^a	1,91±0,29 ^a	1,75±0,14 ^a	1,76±0,17 ^a	1,93±0,51 ^a	17,5
SPAD	43,3±1,34 ^a	42,4±1,68 ^{ab}	41,9±0,5 ^{ab}	41,05±0,45 ^{ab}	40,0±0,8 ^b	9,0
RN ($\mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{MF h}^{-1}$)	0,0004±0,0002 ^b	0,004±0,0008 ^a	0,0056±0,0007 ^a	0,004±0,0004 ^a	0,0033±0,0007 ^a	35,9

*Os valores são apresentados como médias ± erro padrão da média. Nas linhas, médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Fotossíntese líquida (A), condutância estomática (Gs), taxa transpiração (E), concentração de CO_2 intracelular (Ci), eficiência fotossintética do uso da água (EFUA), índice SPAD, atividade da redutase do nitrato (RN).

Tabela 4. Concentrações de macronutrientes em tecidos foliares no clone AEC0144, aos 121 dias de idade, cultivado em diferentes proporções de NO_3^- e NH_4^+ .**Table 4.** Macronutrient concentrations in leaf tissues in clone AEC0144, at 121 days old, grown in different $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratios.

Proporções $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$	g Kg^{-1} MS			
	N	K	Ca	Mg
0/100	21,55 ±0,10 ^a	11,22 ±0,01 ^a	5,47 ±0,02 ^c	2,65 ±0,003 ^b
25/75	18,00 ±0,04 ^b	10,95 ±0,01 ^a	6,50 ±0,03 ^c	2,62 ±0,002 ^b
50/50	18,52 ±0,18 ^b	10,67 ±0,02 ^a	10,50 ±0,05 ^b	2,60 ±0,004 ^b
75/25	16,70 ±0,04 ^b	9,82 ±0,01 ^b	13,92 ±0,05 ^a	3,02 ±0,002 ^a
100/0	17,97 ±0,08 ^b	9,87 ±0,01 ^b	12,55 ±0,03 ^a	2,72 ±0,007 ^b
CV (%)	7,20	2,86	8,45	3,18

Os valores são apresentados como médias ± erro padrão da média. Nas colunas, médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

NO_3^- alcaliniza o pH apoplástico em raízes e folhas, enquanto a absorção de NH_4^+ acidifica-o (Mühling & Läuchli, 2001). Portanto, o fornecimento simultâneo de NO_3^- e NH_4^+ pode ter diminuído as alterações acentuadas no pH apoplástico, reduzindo eventuais riscos de toxidez causada pelo NH_4^+ . De acordo com Bijlsma et al. (2000), em plantas nutridas com NO_3^- ocorre o processo de alcalinização do pH do citosol.

As proporções de NO_3^- e NH_4^+ influenciaram significativamente os teores de alguns macronutrientes em tecidos foliares (Tabela 4). Os teores de N apresentaram uma tendência de diminuição, com o aumento da proporção $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$. A concentração de N em folhas supridas somente com NH_4^+ foi superior à dos demais tratamentos. Estudos realizados por Warren &

Adams (2002) mostraram que a concentração de N nas folhas de *Pinus pinaster* aumenta com a nutrição de NH_4^+ , mas esses autores consideram que as razões para isso ainda necessitam ser investigadas em estudos mais aprofundados.

Os teores de N nas folhas, apesar de afetados pela proporção $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, foram maiores do que os encontrados normalmente em folhas de eucalipto (Malavolta, 1987; Silveira et al., 2002). Contudo, dados obtidos por Shedley et al. (1995), com *Eucalyptus globulus*, estabelecem uma faixa considerada adequada para a concentração foliar de N entre 1,0% e 3,3%, corroborando que os teores de N obtidos nas folhas de *Eucalyptus urophylla*, do presente estudo, são considerados adequados.

De acordo com Bijlsma et al. (2000), a adição simultânea de NO_3^- e NH_4^+ favorece a absorção de N total líquido em espécies de médio a alto potencial para absorção de NH_4^+ . Warren (2006) observaram que, em *Eucalyptus obliqua*, a absorção de N ocorre mais rapidamente sob a forma de NH_4^+ .

Os teores de K nas folhas também mostraram tendência de redução com o aumento na proporção $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$; porém, segundo Malavolta (1987) e Silveira et al. (2002), esses teores são considerados adequados para o eucalipto, em todos os tratamentos. Quanto ao teor de Ca, essa tendência de redução se inverteu, ou seja, os teores desse nutriente aumentaram com o aumento da proporção $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$. Em relação ao Mg, os maiores teores desse nutriente foram registrados em plantas submetidas à proporção 75/25, diferenciando-se significativamente dos demais tratamentos.

Apesar de os teores de Ca e Mg nas proporções $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 0/100 e 25/75 terem se apresentado menores do que os valores ideais recomendados para o eucalipto (Malavolta, 1987; Silveira et al., 2002), esses teores estiveram acima do limite que caracterizam deficiência desses nutrientes. Nas demais proporções $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ (50/50, 75/25 e 100/0), as folhas apresentaram teores de Ca considerados adequados para a espécie. Quanto ao Mg, este nutriente apresentou-se com teor considerado adequado (Silveira et al., 2002) apenas na proporção 75/25. Esses resultados sugerem que a diminuição da proporção $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ pode causar menor absorção de Ca e Mg. Helali et al. (2010), trabalhando com *Arabidopsis thaliana*, consideraram que os baixos teores de K e Ca, encontrados em tecidos foliares de plantas supridas com NH_4^+ como única fonte de N, foram algumas das causas que limitaram o crescimento das plantas. Os cátions inorgânicos (Ca, Mg, K) são frequentemente escassos em tecidos de plantas cultivadas com NH_4^+ como única fonte de N e isso pode ter relação com uma das possíveis causas de toxidez por excesso de NH_4^+ (Britto & Kronzucker, 2005; Hachiya et al., 2012).

4. CONCLUSÕES

Em cultivo hidropônico, o crescimento inicial de plantas jovens de eucalipto, clone AEC0144, com

base na expansão dos tecidos e no acúmulo de massa seca, é mais favorecido se a nutrição de N for feita em combinação de NO_3^- e NH_4^+ , na proporção de 75/25.

Algumas características fisiológicas associadas ao crescimento, tais como fotossíntese líquida e trocas gasosas, não são afetadas significativamente por variações nas proporções de NO_3^- e NH_4^+ . Contudo, a atividade da redutase do nitrato é significativamente afetada por variações nas proporções de NO_3^- e NH_4^+ .

As proporções de NO_3^- e NH_4^+ alteram o pH das soluções hidropônicas e o estado nutricional das plantas, mas essas alterações não se refletem em sintomas visíveis de deficiência ou toxidez de macronutrientes nos tecidos foliares.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) e à FAPESB pela concessão da bolsa de estudo.

STATUS DA SUBMISSÃO

Recebido: 23/05/2013

Aceito: 03/12/2013

Publicado: 31/02/2014

AUTOR(ES) PARA CORRESPONDÊNCIA

Maycon Murilo Castro Guimarães

Departamento de Fitotecnia e Zootecnia,
Universidade Estadual do Sudoeste da
Bahia – UESB, CEP 45083-900, Vitória da
Conquista, BA, Brasil
e-mail: mayconcg2003@yahoo.com.br

REFERÊNCIAS

- Bartelheimer M, Poschlod P. The response of grassland species to nitrate versus ammonium coincides with their pH optima. *Journal of Vegetation Science* 2013; 1-11. <http://dx.doi.org/10.1111/jvs.12124>
- Bayala J, Dianda M, Wilson J, Ouedraogo SJ, Sanon K. Predicting field performance of five irrigated tree species using seedling quality assessment in Burkina Faso, West Africa. *New Forests* 2009; (38): 309-322. <http://doi.org/10.1007/s11056-009-9149-4>

- Bijlsma RJ, Lambers H, Kooijman S. A dynamic whole-plant model of integrated metabolism of nitrogen and carbon. 1. Comparative ecological implications of ammonium-nitrate interactions. *Plant and Soil* 2000; 220(1): 49-69. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1004779019486>
- Britto DT, Kronzucker HJ. NH_4^+ toxicity in higher plants: a critical review. *Journal of Plant Physiology* 2002; 159(6): 567-584. <http://dx.doi.org/10.1078/0176-1617-0774>
- Britto DT, Kronzucker HJ. Nitrogen acquisition, PEP carboxylase, and cellular pH homeostasis: new views on old paradigms. *Plant, Cell & Environment* 2005; 28: 1396-1409. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01372.x>
- Britto DT, Siddiqi MY, Glass ADM, Kronzucker HJ. Futile transmembrane NH_4^+ cycling: A cellular hypothesis to explain ammonium toxicity in plants. *Plant Biology* 2001; 98(7): 4255-4258. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.061034698>
- Cairo PAR, Oliveira LEM, Délu N F°. Determinação das condições ótimas para o ensaio "in vivo" da redutase de nitrato em algumas espécies arbóreas. *Revista Árvore* 1994; 18(1): 87-95.
- Carneiro JGA. *Produção e controle de qualidade de mudas florestais*. Curitiba: UFPR, FUPF; 1995.
- Clark RB. Characterization of phosphatase of intact maize roots. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1975; 23(3): 458-460. <http://dx.doi.org/10.1021/jf60199a002>
- Dickson A, Leaf AL, Hosner JF. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. *Forest Chronicle* 1960; 36(1): 10-13.
- Escobar MA, Geisler DA, Rasmusson AG. Reorganization of the alternative pathways of the Arabidopsis respiratory chain by nitrogen supply: opposing effects of ammonium and nitrate. *Plant journal* 2006; 45(5): 775-788. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02640.x>
- Fernandes ET. *Fotosíntese e crescimento inicial de clones de eucalipto sob diferentes regimes hídricos* [dissertação]. Vitória da Conquista: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia; 2012.
- Garnett TP, Shabala SN, Smethurst PJ, Newman IA. Kinetics of ammonium and nitrate uptake by eucalypt roots and associated proton fluxes measured using ion selective microelectrodes. *Functional Plant Biology* 2003; 30(11): 1165-1176. <http://dx.doi.org/10.1071/FP03087>
- Garnett TP, Shabala SN, Smethurst PJ, Newman IA. Simultaneous measurement of ammonium, nitrate and proton fluxes along the length of eucalypt roots. *Plant and Soil* 2001; 236(1): 55-62. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1011951413917>
- Garnett TP, Smethurst PJ. Ammonium and nitrate uptake by *Eucalyptus nitens*: the effect of pH and temperature. *Plant and Soil* 1999; 214(2): 133-140. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1004740204876>
- Garnica M, Fabrice H, Claude YJ, Maria GMJ. Nitrate modifies urea root uptake and assimilation in wheat seedlings. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2009; 89(1): 55-62. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.3410>
- Grespan SL, Dias LE, Novais RF. Crescimento e parâmetros cinéticos de absorção de amônio e nitrato por mudas de *Eucalyptus* spp submetidas a diferentes relações amônio/nitrato na presença e ausência de fósforo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 1998; 22(4): 667-674.
- Guo XR, Zu YG, Tang ZH. Physiological responses of *Catharanthus roseus* to different nitrogen forms. *Acta Physiol Plant* 2012; 34: 589-598. <http://dx.doi.org/10.1007/s11738-011-0859-9>
- Hachiya T, Terashima I, Noguchi K. Increase in respiratory cost at high growth temperature is attributed to high protein turnover cost in *Petunia x hybrida* petals. *Plant, Cell & Environment* 2007; 30(10): 1269-1283. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01701.x>
- Hachiya T, Watanabe CK, Fujimoto M, Ishikawa T, Takahara K, Kawai-Yamada M, et al. Nitrate addition alleviates ammonium toxicity without lessening ammonium accumulation, organic acid depletion and inorganic cation depletion in *Arabidopsis thaliana* shoots. *Plant and Cell Physiology* 2012; 53(3): 577-591. <http://dx.doi.org/10.1093/pcp/pcs012>
- Helali SM, Nebli H, Kaddour R, Mahmoudi H, Lachaâl M, Ouerghi Z. Influence of nitrate-ammonium ratio on growth and nutrition of *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Soil* 2010; (336): 65-74. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-010-0445-8>
- Ivanova M, Staden JV. Nitrogen source, concentration, and $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$ ratio influence shoot regeneration and hyperhydricity in tissue cultured *Aloe polyphylla*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 2009; 99(2): 167-174. <http://dx.doi.org/10.1007/s11240-009-9589-8>
- Jaworski EG. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1971; 43(6): 1274-1279. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-291X\(71\)80010-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-291X(71)80010-4)
- Koyama L, Tokuchi N. Effects of NO_3^- availability on NO_3^- use in seedlings of three woody shrub species. *Tree Physiology* 2003; 23(4): 281-288. <http://dx.doi.org/10.1093/treephys/23.4.281>
- Kronzucker HJ, Siddiqi MY, Glass ADM. Conifer root discrimination against soil nitrate and the ecology of

- forest succession. *Nature* 1997; 385: 59-61. <http://dx.doi.org/10.1038/385059a0>
- Malavolta E, Vitii GC, Oliveira SA. *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato; 1997.
- Malavolta E. *Manual de calagem e adubação das principais culturas*. São Paulo: Ceres; 1987.
- Meharg AA, Blatt MR. NO₃⁻ transport across the plasma membrane of *Arabidopsis thaliana* root hairs: kinetic control by pH and membrane voltage. *Journal of Membrane Biology* 1995; 145: 49-66. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00233306>
- Miller AJ, Cramer MD. Root nitrogen acquisition and assimilation. *Plant and Soil* 2005; 274: 1-36. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-004-0965-1>
- Mühling KH, Läuchli A. Influence of chemical form and concentration of nitrogen on apoplastic pH of leaves. *Journal of Plant Nutrition* 2001; 24(3): 399-411. <http://dx.doi.org/10.1081/PLN-100104968>
- Oliveira Júnior OA, Cairo PAR, Novaes AB. Características morfofisiológicas associadas à qualidade de mudas de *Eucalyptus urophylla* produzidas em diferentes substratos. *Revista Árvore* 2011; 35(6): 1173-1180.
- Pfautsch S, Rennenberg H, Bell TL, Adams MA. Nitrogen uptake by *Eucalyptus regnans* and *Acacia* spp. - preferences, resource overlap and energetic costs. *Tree Physiology* 2009; 29(3): 389-399. <http://dx.doi.org/10.1093/treephys/tpn033>
- Rahayu YS, Walch-Liu P, Neumann G, Römheld V, Von WN, Bangerth, F. Root-derived cytokinins as long-distance signals for NO₃⁻-induced stimulation of leaf growth. *Journal of Experimental Botany* 2005; 56: 1143-1152. <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/eri107>
- Roosta HR, Schjoerring JK. Effects of ammonium toxicity on nitrogen metabolism and elemental profile of cucumber plants. *Journal of Plant Nutrition* 2007; 30(11): 1933-1951. <http://dx.doi.org/10.1080/01904160701629211>
- Ruan J, Gerendás J, Härdter R, Sattelmacher B. Effect of nitrogen form and root-zone pH on growth and nitrogen uptake of tea (*Camellia sinensis*) plants. *Annals of Botany* 2007; 99(2): 301-310. <http://dx.doi.org/10.1093/aob/mcl258>
- Sakakibara H, Takei K, Hirose N. Interactions between nitrogen and cytokinin in the regulation of metabolism and development. *Trends in Plant Science* 2006; 11(2): 440-448. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2006.07.004>
- Shedley E, Dell B, Grove T. Diagnosis of nitrogen deficiency and toxicity of *Eucalyptus globulus* seedlings by foliar analysis. *Plant and Soil* 1995; 177(2): 183-189. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00010124>
- Silveira RLVA, Moreira A, Takashi EN, Sgarbi F, Branco EF. Sintomas de deficiência de macronutrientes e de boro em clones híbridos de *Eucalyptus grandis* com *Eucalyptus urophylla*. *Cerne* 2002; 8(2): 107-116.
- Takei K, Ueda N, Aoki K, Kuromori T, Hirayama T, Shinozaki K, et al. AtIPT3 is a key determinant of nitrate-dependent cytokinin biosynthesis in Arabidopsis. *Plant and Cell Physiology* 2004; 45(8): 1053-1062. <http://dx.doi.org/10.1093/pcp/pch119>
- Walch-Liu P, Neumann G, Engels C. Response of shoot and root growth to supply of different nitrogen form is not related to carbohydrate and nitrogen status of tobacco plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 2001; 164(1): 97-103. [http://dx.doi.org/10.1002/1522-2624\(200102\)164:1<97::AID-JPLN97>3.0.CO;2-Z](http://dx.doi.org/10.1002/1522-2624(200102)164:1<97::AID-JPLN97>3.0.CO;2-Z)
- Walecka-Hutchison CM, Walworth JL. Evaluating the effects of gross nitrogen mineralization, immobilization, and nitrification on nitrogen fertilizer availability in soil experimentally contaminated with diesel. *Biodegradation* 2007; 18(2): 133-144. <http://dx.doi.org/10.1007/s10532-006-9049-7>
- Warren CR. Potential organic and inorganic N uptake by six eucalyptus species. *Functional Plant Biology* 2006; 33(7): 653-660. <http://dx.doi.org/10.1071/FP06045>
- Warren CR, Adams MA. Possible causes of slow growth of nitrate-supplied *Pinus pinaster*. *Canadian Journal of Forest Research* 2002; 32(4): 569-580. <http://dx.doi.org/10.1139/x01-225?journalCode=cjfr#.UZbLg0rHbnY>
- Yao B, Cao J, Zhao C, Rengel Z. Influence of ammonium and nitrate supply on growth, nitrate reductase activity and N-use efficiency in a natural hybrid pine and its parents. *Journal of Plant Ecology* 2011; 4: 275-282. <http://dx.doi.org/10.1093/jpe/rtq033>