



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**  
**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: FITOTECNIA**

**PROPORÇÕES DE NITRATO E AMÔNIO NA MITIGAÇÃO DOS**  
**EFEITOS DA DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM PLANTAS JOVENS DE**  
*Eucalyptus urophylla*

**POLIANA PRATES DE SOUZA SOARES**

**VITÓRIA DA CONQUISTA**  
**BAHIA - BRASIL**  
**2020**

**POLIANA PRATES DE SOUZA SOARES**

**PROPORÇÕES DE NITRATO E AMÔNIO NA MITIGAÇÃO DOS EFEITOS  
DA DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM PLANTAS JOVENS DE *Eucalyptus urophylla***

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Araquém Ramos Cairo

VITÓRIA DA CONQUISTA  
BAHIA - BRASIL  
2020

S656p

Soares, Poliana Prates de Souza.

Proporções de nitrato e amônio na mitigação dos efeitos da deficiência hídrica em plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*. / Poliana Prates de Souza Soares, 2020.

59f.

Orientador (a): Dr. Paulo Araquém Ramos Cairo.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de concentração em Fitotecnia. Vitória da Conquista, 2020.

Inclui referência F.44–59.

1. Plantas lenhosas - *Eucalyptus urophylla*. 2. Nutrição mineral. 3. Nitrogênio. 4. Deficiência hídrica. I. Cairo, Paulo Araquém Ramos. II. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. T.

CDD: 634.97342

**Catálogo na fonte: Juliana Teixeira de Assunção – CRB 5/1890**

UESB – Campus Vitória da Conquista – BA

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**  
**Área de Concentração em Fitotecnia**

*Campus de Vitória da Conquista, BA*

**DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO**

**Título:** Proporções de nitrato e amônio na mitigação dos efeitos da deficiência hídrica em plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*

**Autor:** Poliana Prates de Souza Soares

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM AGRONOMIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FITOTECNIA, pela seguinte Banca Examinadora:



---

Prof. Dr. Paulo Araújo Ramos Cairo (UESB)  
Presidente



---

Profa. Dra. Joice Andrade Bonfim (IFBaiano, Guanambi)



---

Prof. Dr. Leandro Dias da Silva (UESB)

Data de realização: 23 de outubro de 2020.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre cuida de todas as coisas;

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia), pela oportunidade de realizar o curso de mestrado;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo;

Ao meu orientador, professor Dr. Paulo Araquém Ramos Cairo, pela paciência, apoio, incentivo e confiança. Agradeço também pela convivência harmoniosa e por tantos ensinamentos compartilhados;

À coordenação e aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pelas contribuições e ensinamentos compartilhados;

Aos professores Dr. Cristiano Tagliaferre e Dr<sup>a</sup>. Sylvana Naomi Matsumoto, pelo apoio na condução desta pesquisa;

Ao Dr. Leandro Dias da Silva, pelos ensinamentos, incentivo e apoio na condução deste trabalho;

Aos colegas de laboratório: Raul, Matheus Ferreira, Mateus Pires e Mikaela, pela colaboração na realização deste trabalho e pelos momentos de descontração;

A todos os funcionários da UESB que me auxiliaram na condução desta pesquisa, em especial ao chefe de campo Dui;

Ao meu marido Naasoom, pelo apoio e companheirismo na realização deste trabalho;

A todos os colegas de Pós-graduação, pela amizade e ensinamentos compartilhados, em especial, a Elismar e Bismarc.

## RESUMO

SOARES, P.P.S. **Proporções de nitrato e amônio na mitigação dos efeitos da deficiência hídrica em plantas jovens de *Eucalyptus urophylla***. Vitória da Conquista - BA, UESB, 2020. 59 p. (Dissertação: Mestrado em Agronomia; Área de Concentração: Fitotecnia)\*.

Este estudo considerou a hipótese de que a tolerância das plantas à deficiência hídrica pode ser influenciada, entre outros fatores, pelas formas iônicas disponíveis na adubação nitrogenada. Assim, o objetivo foi avaliar os efeitos de diferentes proporções de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) sobre características morfofisiológicas e bioquímicas relacionadas ao crescimento, visando a mitigação da deficiência hídrica em plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*. Realizou-se um experimento em casa de vegetação, em delineamento inteiramente ao acaso e esquema fatorial  $5 \times 2$ , com proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  (0,0:1,0 – 0,25:0,75 – 0,50:0,50 – 0,75:0,25 – 1,0:0,0) e regimes hídricos com irrigações equivalentes a 90% e 30% da capacidade de vaso. Foram avaliados parâmetros morfofisiológicos relacionados ao crescimento, indicadores do estado hídrico, trocas gasosas e aspectos bioquímicos e metabólicos. A restrição hídrica influenciou negativamente o crescimento, reduzindo significativamente a altura de plantas, diâmetro de caule, área foliar e massa seca de folhas, caule e raízes. Essa redução do crescimento foi atribuída, principalmente, a uma combinação de efeitos fisiológicos e bioquímicos negativos, como diminuição do potencial hídrico e da condutância estomática, declínio da fotossíntese líquida e redução nos teores de açúcares redutores e amido. A adubação nitrogenada mista, com diferentes proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , mostrou-se ineficaz para evitar a redução do crescimento nas plantas sob deficiência hídrica. Por outro lado, proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  iguais ou superiores a 0,50:0,50 podem favorecer o desempenho de características morfofisiológicas relacionadas ao crescimento, independentemente dos regimes hídricos. Esse dado é particularmente relevante para plantas sob irrigação 30%, visto que a adubação nitrogenada mista com proporção de  $\text{NO}_3^-$  maior ou igual à de  $\text{NH}_4^+$  proporciona mitigação dos efeitos negativos do estresse hídrico sobre o crescimento, mesmo sem prevenir danos às características morfofisiológicas. O aumento na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  também atenua os efeitos da restrição hídrica sobre o potencial hídrico foliar, condutância estomática e fotossíntese. O desempenho da atividade da redutase do nitrato é melhor sob adubação mista com  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  do que sob adubação apenas com  $\text{NO}_3^-$  ou  $\text{NH}_4^+$ .

**Palavras-chave:** Plantas lenhosas; nitrogênio; nutrição mineral; deficiência hídrica.

---

\***Orientador:** Prof. Dr. Paulo Araquém Ramos Cairo, UESB.

## ABSTRACT

SOARES, P.P.S. **Nitrate and ammonium ratios to mitigate the effects of water deficit in young plants of *Eucalyptus urophylla***. Vitória da Conquista – BA, UESB, 2020. 59 p. (Dissertation: Master Science in Agronomy; Area of Concentration: Crop Science)\*.

This study considered the hypothesis that the plant tolerance to water deficit may be influenced, among other factors, by the ionic forms available in nitrogen fertilization. Thus, the objective was to evaluate the effects of different nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) and ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) ratios on growth-related morphophysiological and biochemical traits, aiming to mitigate water deficit in young plants of *Eucalyptus urophylla*. A greenhouse experiment was arranged in a completely randomized design and factorial scheme 5 x 2, with different  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  ratios (0.0:1.0 - 0.25:0.75 - 0.50:0.50 - 0.75:0.25 - 1.0:0.0) and water regimes with irrigations equivalent to 90% and 30% of pot capacity. Morphophysiological parameters related to growth, water status indicators, gas exchange and biochemical and metabolical aspects were evaluated. Water deficit negatively influenced plant growth, with significant decrease in height, stem diameter, leaf area, and leaves, stem and roots dry mass. Growth reduction was mainly attributed to negative physiological and biochemical effects, such as decreased water potential, stomatal conductance, net photosynthesis, and both reducing sugars and starch content. Mixed nitrogen fertilization with different  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  ratios proved to be ineffective in preventing growth reduction in plants under water deficit. Conversely,  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  ratios equal to or greater than 0.50:0.50 can favor the performance of growth-related morphophysiological traits, irrespectively of the water regimes. This data is especially relevant for plants under irrigation 30%, given that nitrogen fertilization based on  $\text{NO}_3^-$  ratio greater than or equal to  $\text{NH}_4^+$  provides mitigation of the negative effects of water deficit on growth, even without preventing damage to morphophysiological traits. The increase in the  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  ratio also attenuates the effects of water deficit on leaf water potential, stomatal conductance and net photosynthesis. The performance of nitrate reductase activity is better under mixed  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  than under only  $\text{NO}_3^-$  or  $\text{NH}_4^+$  fertilization.

**Keywords:** Woody plants; nitrogen; mineral nutrition; water deficit.

---

\*Advisor: Prof. Dr. Paulo Araquém Ramos Cairo, UESB.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Temperatura máxima (Tmax), temperatura mínima (Tmin) e umidade relativa do ar (UR) durante o período experimental ..... 22
- Figura 2 – Potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) em plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, em função da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , sob irrigações 90% e 30%. Médias com letras minúsculas iguais, em cada proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , indicam que os regimes hídricos não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,01$ ). \*\* significativo ( $p < 0,01$ ), de acordo com o teste  $t$  ..... 28
- Figura 3 – Teor relativo de água em plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, em função da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ . Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,01$ ) ..... 29
- Figura 4 – Condutância estomática ( $g_s$ ) [A], transpiração ( $E$ ) [B], fotossíntese líquida (A) [C] e eficiência intrínseca no uso de água (EiUA) [D], em plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, em função da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , sob irrigações 90% e 30%. Médias com letras minúsculas iguais, em cada proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , indicam que os regimes hídricos não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,01$ ). \*\* significativo ( $p < 0,01$ ), de acordo com o teste  $t$  ..... 30
- Figura 5 – Teor de clorofila total em folhas de plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, em função da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , independentemente do regime hídrico. Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,01$ ) ..... 31
- Figura 6 – Teores de açúcares redutores [A] e amido [B] em folhas de plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, em função da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , sob irrigações 90% e 30%. Médias com letras minúsculas iguais, em cada proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , indicam que os regimes hídricos não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,01$ ). \*\* significativo ( $p < 0,01$ ), de acordo com o teste  $t$  ..... 32
- Figura 7 – Teor de prolina em folhas de plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, em função da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , sob irrigações 90% e 30%. Letras minúsculas comparam médias entre os regimes hídricos, enquanto as maiúsculas, entre as proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ . Letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) ..... 33
- Figura 8 – Atividade da redutase de nitrato (RN) em folhas de plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, em função da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , sob irrigações 90% e 30%. Médias com letras minúsculas iguais, em cada proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , indicam que os regimes hídricos não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,01$ ). \*\* significativo ( $p < 0,01$ ) e \*\* ( $p < 0,05$ ), de acordo com o teste  $t$  ..... 34
- Figura 9 – Sintomas de toxidez por  $\text{NH}_4^+$  em plantas jovens de eucalipto submetidas a proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  de 0,25:0,75 e 0,0:1,0 ..... 36



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resumo da análise de variância e coeficiente de variação (CV) para potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) e teor relativo de água (TRA) em plantas jovens de <i>Eucalyptus urophylla</i> , clone AEC 144, em função da proporção $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ e regimes hídricos (RH) .....	27
Tabela 2 – Resumo da análise de variância e coeficiente de variação (CV) para condutância estomática ( $g_s$ ), transpiração ( $E$ ), fotossíntese líquida ( $A$ ) e eficiência intrínseca do uso da água (EiUA) em plantas jovens de <i>Eucalyptus urophylla</i> , clone AEC 144, em função da proporção $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ e regimes hídricos.....	29
Tabela 3 – Resumo da análise de variância e coeficiente de variação (CV) para os teores de clorofila total (CLO), carotenoides (CAR), açúcares redutores (AR), amido (AMI), prolina (PRO) e atividade da redutase de nitrato (RN) em plantas jovens de <i>Eucalyptus urophylla</i> , clone AEC 144, em função da proporção $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ e regimes hídricos (RH) .....	31
Tabela 4 – Efeitos dos regimes hídricos sobre os teores de clorofila total e carotenoides em folhas de plantas jovens de <i>Eucalyptus urophylla</i> , clone AEC 144, independentemente da proporção $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ .....	32
Tabela 5 – Resumo da análise de variância e coeficiente de variação (CV) para altura de plantas (H), diâmetro de caule (D), número de folhas (NF), área foliar (AF), razão altura/diâmetro (H/D), massa seca de folhas, caule e raiz (MSF, MSC e MSR) e razão massa seca de parte aérea/raiz (PA/R) em plantas jovens de <i>Eucalyptus urophylla</i> , clone AEC 144, em função da proporção $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ e regimes hídricos (RH) .....	35
Tabela 6 – Efeitos da proporção $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ sobre altura de plantas (H), diâmetro de caule (D), área foliar (AF) e massa seca de folhas, caule e raiz (MSF, MSC e MSR), em plantas jovens de <i>Eucalyptus urophylla</i> , clone AEC 144, independentemente do regime hídrico .....	35
Tabela 7 – Efeitos dos regimes hídricos sobre altura de plantas (H), diâmetro de caule (D), área foliar (AF) e massa seca de folhas, caule e raiz (MSF, MSC e MSR), em plantas jovens de <i>Eucalyptus urophylla</i> , clone AEC 144, independentemente da proporção $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ .....	36

## LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

1O <sub>2</sub>	oxigênio singlete
A	fotossíntese líquida
AF	área foliar
AMI	amido
AR	açúcares redutores
ATP	adenosina trifosfato
CAR	carotenoides
CLO	clorofila total
CO <sub>2</sub>	dióxido de carbono
CV	coeficiente de variação
D	diâmetro de caule
DMSO	dimetilsulfóxido
DNS	ácido dinitrosalicílico
<i>E</i>	transpiração
EiUA	eficiência intrínseca no uso da água
EROs	espécies reativas de oxigênio
GOGAT	glutamato sintase
GS	glutamina sintetase
<i>g<sub>s</sub></i>	condutância estomática
H	altura
HCl	ácido clorídrico
H/D	razão altura/diâmetro
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	ácido sulfúrico
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	fosfato de potássio
KNO <sub>3</sub>	nitrato de potássio
MF	massa fresca
MS	massa seca
MSC	massa seca de caule
MSF	massa seca de folhas
MSR	massa seca de raiz
MT	massa túrgida
N <sub>2</sub>	dinitrogênio
NF	número de folhas
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	amônio
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	nitrato
PA/R	razão massa seca de parte aérea/raiz
PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	fosfato
POD	peroxidase
PRO	prolina
RH	regime hídrico
RN	redutase de nitrato
RNi	redutase de nitrito
SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	sulfato
SOD	superóxido dismutase
TRA	teor relativo de água
Ψ <sub>w</sub>	potencial hídrico foliar

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	12
2.1 Eucalipto .....	12
2.2 Efeitos morfofisiológicos da deficiência hídrica .....	13
2.3 Absorção e assimilação de amônio e nitrato .....	18
2.4 Adubação nitrogenada mista e mitigação dos efeitos da deficiência hídrica ..	20
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	21
3.1 Condições de cultivo e delineamento experimental .....	21
3.2 Avaliações .....	23
3.2.1 Parâmetros indicadores do estado hídrico .....	23
3.2.2 Características relacionadas a trocas gasosas .....	24
3.2.3 Características bioquímicas e metabólicas .....	24
3.2.3.1 Pigmentos fotossintéticos .....	24
3.2.3.2 Extração e quantificação de açúcares redutores .....	25
3.2.3.3 Teor de amido .....	25
3.2.3.4 Extração e quantificação de prolina .....	26
3.2.3.5 Atividade da enzima redutase de nitrato .....	26
3.2.4 Características morfofisiológicas relacionadas ao crescimento .....	26
3.3 Análise estatística dos dados .....	27
4 RESULTADOS .....	27
4.1 Parâmetros indicadores do estado hídrico .....	27
4.2 Características relacionadas a trocas gasosas .....	29
4.3 Características bioquímicas e metabólicas .....	30
4.4 Características morfofisiológicas relacionadas ao crescimento .....	34
5 DISCUSSÃO .....	36
6 CONCLUSÕES .....	43
REFERÊNCIAS .....	44

## 1 INTRODUÇÃO

A cultura do eucalipto é de grande importância para o setor florestal brasileiro, e está presente em 72,41% da área total de florestas plantadas no Brasil (IBÁ, 2019). Seu cultivo resulta em produtos distintos, tais como a madeira, carvão vegetal, resinas, compensados, celulose e papel. Para atender à crescente demanda de mercado, os plantios de eucalipto têm se expandido continuamente em todo o país, inclusive em regiões com restrições hídricas, que podem se tornar limitantes, especialmente para a sobrevivência e o crescimento das plantas jovens.

Em Vitória da Conquista, no centro-sul baiano, o índice pluviométrico é considerado baixo e irregular, podendo tornar-se limitante para a eucaliptocultura, dificultando, assim, o atendimento às demandas locais e regionais do setor madeireiro. Apesar da ampla utilização de clones tolerantes à restrição hídrica na região, essa estratégia de cultivo, por si só, pode não ser suficiente para prevenir os efeitos fisiológicos da baixa disponibilidade de água no solo, sobretudo nas etapas iniciais da implementação de povoamentos florestais, quando as plantas ainda são jovens.

A qualidade do estado nutricional é um dos fatores determinantes para o desenvolvimento das plantas em condições de restrição hídrica e, nesse aspecto, o nitrogênio (N) é o nutriente mais requerido, sendo absorvido pelas plantas, principalmente nas formas de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) (Hawkesford et al., 2012). Enquanto a absorção de  $\text{NO}_3^-$  ocorre apenas de maneira ativa, requerendo gasto de energia metabólica, a de  $\text{NH}_4^+$  pode ocorrer tanto de maneira ativa quanto passiva (Li et al., 2013). Além disso, para ser incorporado em aminoácidos, é necessário haver redução de  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NH}_4^+$ , cujas reações são mediadas pelas enzimas redutase de nitrato (RN) e redutase de nitrito (RNi), em ação que demanda oito elétrons para cada mol de  $\text{NO}_3^-$  assimilado (Taiz et al., 2017). A absorção de amônio, por sua vez, requer menor consumo de energia, porém esse íon pode tornar-se tóxico às plantas, quando se acumula nos tecidos.

Nitrato e amônio também influenciam, de diferentes formas, alguns processos morfofisiológicos e bioquímicos das plantas, podendo ocasionar alterações em características diretamente relacionadas à tolerância à restrição hídrica, como acúmulo de massa seca de raiz (Holzschuh et al., 2011), absorção de água (Guo et al., 2002; Faustino et al., 2015) e nutrientes (Roosta e Schjoerring, 2007), taxa fotossintética (Cao et al., 2018), regulação osmótica e atividade antioxidante (Zhang et al., 2011;

Fernández-Crespo et al., 2012). Estudos realizados com mudas de arroz demonstraram que, em comparação ao nitrato, o amônio proporciona maior capacidade de absorção de água pelas raízes (Gao et al., 2010; Yang et al., 2012; Ding et al., 2016). No entanto, em arroz (Cao et al., 2018) e milho (Zhang et al., 2011), as plantas foram mais tolerantes à deficiência hídrica sob adubação mista com nitrato e amônio do que sob apenas uma forma de N. Em *Eucalyptus urophylla*, maior crescimento foi verificado sob proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  de 0,75:0,25 (Guimarães et al., 2014). O efeito benéfico da aplicação combinada destas formas de N tem sido atribuído a fatores diversos, tais como a capacidade de manter a estabilidade do pH celular, assimilar N com menor consumo de energia, regular a absorção de outros cátions, fazer o uso racional dos esqueletos de carbono, e aliviar os riscos de toxicidade por  $\text{NH}_4^+$  (Hachiya et al., 2012; Li et al., 2013; Hachiya e Sakakibara, 2016).

Neste estudo, considerou-se a hipótese de que a tolerância das plantas à deficiência hídrica pode ser influenciada, entre outros fatores, pelas formas iônicas disponíveis na adubação nitrogenada. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de diferentes proporções de nitrato e amônio sobre características morfofisiológicas e bioquímicas relacionadas ao crescimento, visando à mitigação do estresse hídrico em plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Eucalipto

O gênero *Eucalyptus*, pertencente à família Myrtaceae, tem sua origem na Austrália, exceto as espécies *E. urophylla* e *E. deglupta*, que ocorrem em ilhas da Oceania, fora da Austrália. Atualmente, há cerca de 700 espécies identificadas. No Brasil, as principais espécies plantadas são *E. grandis*, *E. saligna*, *E. urophylla* e *E. viminalis*, além de híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*, *E. citriodora* e *E. camaldulensis* (CI Florestas, 2020).

Em 2018, as florestas plantadas no Brasil ocupavam uma área de 7,83 milhões de hectares, dos quais 5,7 milhões correspondiam a plantações de eucalipto, o que representa 72,41% da área total de florestas plantadas. As plantações de eucalipto estão localizadas principalmente nos Estados de Minas Gerais (24%), São Paulo (17%), Mato Grosso do Sul (16%) e Bahia (11%). Nesse mesmo ano, o setor de árvores plantadas foi

responsável por 1,3% de toda a riqueza gerada no país, e 6,9% do PIB industrial, empregando diretamente cerca de 513 mil pessoas (IBÁ, 2019).

As espécies do gênero *Eucalyptus* destacam-se entre as espécies florestais devido à sua alta produtividade, crescimento rápido e capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais. No Brasil, o eucalipto é utilizado para o reflorestamento comercial, e o seu cultivo responde por grande parte do sucesso da atividade florestal, sobretudo nos setores ligados à produção de papel, celulose e madeira (Gonçalves, 2013). Segundo Jesus et al. (2012), a produtividade das plantações comerciais de eucalipto é bastante variável e dependente da disponibilidade de água e nutrientes. A maioria das plantações de eucalipto é gerida em rotações curtas (6 a 8 anos) e é estabelecida em regiões com níveis de água, nutrientes e temperaturas estressantes, sendo que essas limitações apresentam de baixa a alta intensidade (Gonçalves et al., 2013).

No estado da Bahia, os principais empreendimentos florestais estão localizados na região extremo sul, devido às suas condições altamente propícias ao cultivo do eucalipto (Sant'Anna e Leonel, 2005). Na mesorregião do centro-sul baiano, o clone AEC 144 de *Eucalyptus urophylla* tem se revelado promissor para o cultivo, principalmente devido à sua tolerância à deficiência hídrica (Fernandes, 2012). Esse clone é um híbrido espontâneo de *E. urophylla* (Sampaio et al., 2016), e foi selecionado para a produção de carvão vegetal, em condições edafoclimáticas da área de atuação da Empresa Arcelor Mittal (antiga Acesita), em Minas Gerais. Exibe bom desempenho em volume de madeira e crescimento, e tolerância a doenças e insetos-praga (Reis et al., 2014), Müller et al. (2017) também o classificaram como tolerante à seca, por apresentar menor redução de crescimento e maior eficiência na utilização de nutrientes, quando comparado a outros clones submetidos a restrição hídrica.

## **2.2 Efeitos morfofisiológicos da deficiência hídrica**

A primeira e mais sensível resposta à deficiência hídrica é a redução da turgescência das células (Gupta et al., 2020). Devido à sua estreita relação com a pressão de turgor, que representa a força motriz para a expansão celular, o crescimento das plantas é reduzido (Morales et al., 2020). Diversos estudos têm demonstrado que a imposição da deficiência hídrica ocasiona redução no teor relativo de água foliar, com

impactos negativos em altura, diâmetro de caule (Tariq et al., 2018; Karim et al., 2020), número de folhas (Hayatu et al., 2014) e área foliar das plantas (Santos e Alvim, 2016). Plantas de *Eucalyptus camaldulensis* e *E. globulus*, submetidas a três regimes hídricos (100, 72 e 51% da capacidade de campo) exibiram redução da área foliar, massa seca radicular e total com a intensificação da restrição hídrica (Maseda e Fernandes, 2016). Em plantas de *E. urograndis*, a imposição de restrição hídrica, moderada e severa, ocasionou redução de altura, diâmetro do caule, área foliar e massa seca total (Klippel et al., 2013).

A restrição hídrica pode ocasionar redução no potencial hídrico foliar, devido à menor disponibilidade de água no solo para repor as perdas por transpiração (Costa e Marengo, 2007). Nessa condição, pode haver modificações na alocação de biomassa radicular, tendo em vista a exploração de perfis do solo mais profundos com maior disponibilidade hídrica. Em *E. microtheca* e *E. urophylla*, o aumento da alocação de massa seca para as raízes compensa alguns dos efeitos negativos da seca e favorece a captação de água (Susiluoto e Berninger, 2007; Nóia Júnior et al., 2020). Entretanto, a imposição de restrição hídrica severa pode ocasionar redução na relação raiz/parte aérea e no crescimento radicular, limitando ainda mais a absorção de água e nutrientes pelas raízes (Rad et al., 2011).

As plantas, normalmente, diminuem simultaneamente a fotossíntese e a condutância estomática, à medida que a deficiência hídrica se torna mais severa. A taxa de transpiração também decresce, como resultado do fechamento dos estômatos, sendo considerado como um dos importantes mecanismos de defesa contra perdas excessivas de água (Warren et al., 2011). Sob restrição hídrica, as plantas podem exibir maior eficiência na utilização de água do que em condições ideais, o que está relacionado com o fechamento dos estômatos, que reduz a transpiração (Lawson e Blatt, 2014). Em estudo conduzido com plantas de *E. camaldulensis*, verificou-se aumento na eficiência do uso da água em plantas submetidas à deficiência hídrica moderada (70% da capacidade de campo), e redução, sob deficiência hídrica severa (40% da capacidade de campo) (Rad et al., 2011).

De acordo com Smit e Singels (2006), quando o teor relativo de água na folha se encontra em condições iguais ou inferiores a 75%, a atividade fotossintética reduz significativamente, em função da redução da disponibilidade de CO<sub>2</sub> no interior do mesófilo foliar, ocasionada pelo fechamento parcial dos estômatos (Padilha et al., 2016). Mendes et al. (2013) verificaram inibição da fotossíntese, como consequência do

fechamento dos estômatos, em cinco genótipos de eucalipto submetidos à suspensão da irrigação. Ao avaliar os efeitos da deficiência hídrica em quatro genótipos de eucalipto, VM 1 (híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*), VCC 865 (híbrido de *E. urophylla* x *E. grandis*), AEC 144 e AEC 224 (*E. urophylla*), Fernandes et al. (2015) observaram que a deficiência hídrica causou decréscimos no potencial hídrico foliar, teor relativo de água, transpiração, condutância estomática e fotossíntese em todos os genótipos.

A diminuição no teor de clorofilas é mais um sintoma típico de plantas submetidas à restrição hídrica (Salehi-Lisar e Bakhshayeshan-Agdam, 2016). Entretanto, alguns estudos sobre restrições hídricas em eucalipto relatam tanto aumento (Mendes et al., 2013; Correia et al., 2014; Berenguer et al., 2018) como diminuição no teor de clorofilas (Utkhao e Yingjajaval, 2015; Tariq et al., 2018). Estas alterações podem estar relacionadas ao grau de tolerância de cada clone (Silva et al., 2016). Em espécies menos tolerantes, ou sob deficiência hídrica severa, a redução no teor de clorofila ocorre em função da desintegração das membranas ocasionada pelo estresse oxidativo (Stefanuto, 2002). No entanto, dependendo da espécie vegetal, a redução na absorção de energia luminosa pelo menor teor de clorofila nas folhas pode se constituir uma estratégia protetora contra o estresse oxidativo (Matos et al., 2009). Por outro lado, o aumento no teor de clorofilas possibilita a manutenção da capacidade fotossintética sob restrição hídrica (Correia et al., 2014), e pode estar relacionado à redução na expansão foliar ou ao papel protetor exercido pelos carotenoides (Mendes et al., 2013; Correia et al., 2014).

O fechamento estomático, decorrente da restrição hídrica, pode tornar o fotossistema II mais susceptível a danos, devido à perda de equilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a defesa antioxidante, causando a acumulação de EROs, que induz o estresse oxidativo em proteínas, fosfolipídios de membrana e outros componentes celulares (Farooq et al., 2009). Neste caso, a presença de antioxidantes não enzimáticos, como os carotenoides, é de extrema importância para a manutenção da integridade das membranas, eliminação de EROs e aumento da tolerância das plantas a deficiência hídrica (Anjum et al., 2011). Os carotenoides são pigmentos que atuam na remoção de oxigênio singlete ( $1O_2$ ) dos tilacóides e como fotoprotetores, por meio da dissipação da energia excedente captada para a fotossíntese, evitando assim que esta seja encaminhada ao  $O_2$  para a formação de EROs (Taiz et al., 2017).



Sob condições de deficiência hídrica, plantas de eucalipto geralmente exibem aumento no teor de carotenoides (Shvaleva et al., 2006; Correia et al., 2014; Berenguer et al., 2018; Müller et al., 2020), o que pode ser relacionado ao fato destes pigmentos atuarem no mecanismo de resposta da planta ao estresse (Altangerel et al., 2017). Entretanto, a formação excessiva de EROs e a redução da atividade fotossintética podem ocasionar a sua degradação (Ramel et al., 2012; Altangerel et al., 2017).

O ajuste osmótico, a osmoproteção e o sistema de defesa antioxidante são alguns dos mecanismos fisiológicos responsáveis pela tolerância à seca. O ajuste osmótico mantém as relações hídricas sob estresse osmótico, devido à acumulação de uma série de íons ou moléculas osmoticamente ativas, incluindo açúcares solúveis, álcoois de açúcar, prolina, glicina betaína, ácidos orgânicos, cálcio, potássio, íons de cloreto, etc (Farooq et al., 2009). Sob deficiência hídrica, como resultado da acumulação de solutos, o potencial osmótico da célula é reduzido, o que atrai a água para dentro da célula e auxilia na manutenção da turgescência (Farooq et al., 2009).

As plantas recorrem a vários mecanismos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos para mitigar os efeitos da restrição hídrica. Entre eles, estão: redução no tamanho da folha, senescência foliar prematura, redução da parte aérea e aumento do sistema radicular (Anjum et al., 2011). A inibição no crescimento da parte aérea reduz o consumo de carbono e de energia, e uma maior proporção de assimilados da planta pode ser alocada para as raízes, aumentando a captação de água e nutrientes (Santos e Schumacher, 2016). Estudos que avaliaram o estabelecimento de plantas jovens de eucalipto em condições de campo, apontam maior tolerância à deficiência hídrica em espécies e clones em que houve aumento na relação raiz/parte aérea, proporcionando maior desenvolvimento inicial (Moroni et al., 2003; Reis et al., 2006).

Sob deficiência hídrica, é comum haver alterações nos teores de carboidratos das plantas (Dong e Beckles, 2019). O amido é degradado nos tecidos que o acumulam, e a diminuição nos seus teores, geralmente, é acompanhada por um aumento nos teores de açúcares solúveis (Chaves-Filho e Stacciarini-Seraphin, 2001). Em plantas de *E. globulus* e *E. urophylla* submetidas à restrição hídrica, verificou-se redução nos teores de amido e aumento nos de açúcares solúveis, em comparação a plantas plenamente irrigadas (Mitchell et al., 2014; Chen et al., 2020). Quando a redução no teor de amido não é acompanhada de aumento no teor de açúcares solúveis, pode estar ocorrendo um consumo imediato de carboidratos de reserva direcionado apenas para manter a sobrevivência das plantas (Melo et al., 2007).

Sob restrição hídrica, a inibição do crescimento, associada à manutenção da atividade fotossintética, leva ao acúmulo de açúcares solúveis nas células, os quais podem desempenhar funções importantes, como sinalizador, protetor de moléculas ou indutor de ajuste osmótico (Vandoorne et al., 2012). No entanto, caso haja diminuição significativa na eficiência fotossintética, ocorrerá redução no fornecimento de açúcares solúveis para suprir os tecidos (Mendes, 2015).

O estresse hídrico reduz os teores de proteínas solúveis totais nos tecidos da planta, devido ao aumento na atividade de enzimas proteolíticas, que degradam as proteínas de reservas, resultando em aumento no teor de aminoácidos (Souza et al., 2014). O aumento da proteólise promove o incremento no teor de alguns metabólitos, tais como poliaminas, amônia, arginina, ornitina, glutamina e glutamato, que atuam na indução da biossíntese de prolina (Ferreira et al., 2002). O acúmulo de prolina nas folhas é um dos indicadores de estresse hídrico (Hossain e Fujita, 2010), e constitui-se numa resposta primária de defesa, em plântulas de eucalipto estressadas (Cha-Um e Kirdmanee, 2010). A prolina desempenha várias funções na célula, tais como ajustamento osmótico, reserva de carbono e nitrogênio para o restabelecimento do crescimento após o estresse, desintoxicação do excesso de amônio, estabilização de proteínas e membranas, e eliminação de radicais livres (Kavi Kishor et al., 2005).

A água exerce uma função importante na nutrição das plantas, seja na aquisição de nutrientes pelas raízes, seja no seu transporte para a parte aérea (Bhattacharjee e Saha, 2014). Em condições de deficiência hídrica, a absorção de nutrientes é prejudicada, em função da redução na umidade do solo, que eventualmente leva a uma difusão lenta de nutrientes minerais do solo para a superfície da raiz. Adicionalmente, o transporte de nutrientes da raiz para a parte aérea também é afetado em função do fechamento precoce dos estômatos, que reduz a taxa de transpiração (Ahanger et al., 2016). A redução na absorção dos nutrientes inorgânicos, como nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), fosfato ( $\text{PO}_4^-$ ) e sulfato ( $\text{SO}_4^-$ ), também pode ser limitada pela disponibilidade de energia para a assimilação desses íons, que devem ser convertidos em processos dependentes de energia, antes de serem usados para o crescimento e desenvolvimento das plantas (Grossman e Takahashi, 2001).

A deficiência hídrica pode limitar a capacidade das plantas de reduzir e assimilar nitrogênio. A reductase de nitrato (RN), primeira enzima na via de redução de nitrato a amônio, assim como as enzimas relacionadas à assimilação do  $\text{NH}_4^+$  em aminoácidos, tais como glutamina sintetase (GS) e glutamato sintase (GOGAT), sofrem inibição da

sua atividade sob deficiência hídrica (Correia et al., 2005; Meng et al., 2016, Huang et al., 2018). A redução na atividade dessas enzimas está relacionada tanto às limitações impostas pela restrição hídrica na aquisição de nitrato e amônio pelas raízes, como à diminuição no fluxo de água pela corrente transpiratória, que reduz a translocação destes íons para a parte aérea (Oliveira et al., 2011; Huang et al., 2018).

### **2.3 Absorção e assimilação de amônio e nitrato**

O desenvolvimento das plantas depende do suprimento adequado de nitrogênio, principalmente porque este nutriente participa diretamente do metabolismo, atuando como constituinte da molécula de clorofila, ácidos nucleicos, aminoácidos e proteínas (Oliveira et al., 2010). As plantas absorvem N tanto nas formas inorgânicas, como o nitrato e o amônio, quanto nas formas orgânicas, como uréia e aminoácidos (Marschner, 2012). Em solos agrícolas,  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  são as formas iônicas predominantemente absorvidas (Hawkesford et al., 2012).

O amônio, quando se acumula em níveis elevados nos tecidos, torna-se tóxico para as plantas, e algumas hipóteses têm sido propostas para explicar as causas da sua toxidez. As explicações mais plausíveis incluem: o envolvimento da síntese e ação do etileno como uma resposta-chave da planta ao estresse por  $\text{NH}_4^+$  (Li et al., 2013); o efluxo ativo de  $\text{NH}_4^+$  citosólico, que demanda energia (Coskun et al., 2013); efeitos fotossintéticos, relacionados principalmente à fotoproteção (Borgognone et al., 2013; Huang et al., 2013; Boschiero et al., 2019); e redução nas concentrações de cátions essenciais que possuem funções homeostáticas (Borgognone et al., 2013; Abasi et al., 2016; Silva et al., 2016). O impacto de sua toxidez no processo fotossintético e na assimilação de cátions essenciais ocorre devido à dissipação dos gradientes de prótons transmembrana, necessários para o transporte de elétrons na fotossíntese e na cadeia respiratória, bem como para o sequestro de metabólitos nos vacúolos e para o transporte de nutrientes através das membranas biológicas (Taiz et al., 2017).

Os sintomas de toxidez por  $\text{NH}_4^+$  incluem redução no crescimento, clorose e necrose foliar, alterações no sistema radicular com inibição na formação de raízes laterais e redução na relação raiz/parte aérea (Wong, 2005; Li et al., 2013; Esteban et al., 2016). Apesar dos riscos de toxidez, a nutrição amoniacal não deve ser considerada exclusivamente como indesejável para o desempenho das plantas, pois, a depender da

espécie e das condições ambientais, o  $\text{NH}_4^+$  pode promover mudanças no metabolismo vegetal, que resultam em benefício para as plantas (Marino e Moran, 2019).

O transporte de amônio através da membrana plasmática pode ocorrer de maneira passiva ou ativa. No transporte passivo, os íons  $\text{NH}_4^+$  permeiam a membrana plasmática através dos canais de  $\text{K}^+$ , enquanto o transporte ativo inclui o co-transporte  $\text{H}^+/\text{NH}_4^+$  por transportadores específicos (Li et al., 2013). O nitrato, no entanto, por se tratar de um ânion, o seu transporte do meio exterior para o interior das células epidérmicas e do córtex da raiz ocorre contra um gradiente eletroquímico, e requer maior gasto de energia metabólica (Silva et al., 2010). A entrada do nitrato no citosol se dá por meio de um sistema de simporte, onde dois prótons são bombeados para o exterior da célula através de uma ATP-ase transmembrana, os quais, ao retornarem passivamente ao interior da célula, permitem a entrada de um íon nitrato (Taiz et al., 2017). O nitrato absorvido da solução do solo pode ser reduzido a amônio nas raízes, na parte aérea, ou em ambos os órgãos. A primeira etapa do processo é a redução de nitrato a nitrito no citosol, numa reação catalisada pela redutase de nitrato (RN). O nitrito, por sua vez, é reduzido a amônio, em reação catalisada pela redutase de nitrito (RNi) (Matsumura, 2012).

Além da absorção direta do solo pelas raízes das plantas e por meio da redução de  $\text{NO}_3^-$ , o  $\text{NH}_4^+$  também é gerado constantemente nos tecidos vegetais por processos como fotorrespiração, biossíntese de lignina, remobilização de N induzida por senescência, e fixação biológica de  $\text{N}_2$  (Joy, 1988). Independentemente da sua origem, o  $\text{NH}_4^+$  é, então, incorporado em aminoácidos pelas enzimas sintetase da glutamina (GS) e sintase do glutamato (GOGAT). Nesse processo, a GS é uma enzima chave, porque catalisa a fixação dependente de ATP do amônio no grupo  $\delta$ -carboxila do glutamato para formar a glutamina, enquanto a GOGAT catalisa a conversão de glutamina e 2-oxoglutarato em duas moléculas de glutamato, fornecendo glutamato para a assimilação de amônio (Bernard e Habash, 2009). O resultado líquido do ciclo GS-GOGAT é a produção de glutamato, que pode então ser incorporado a outros aminoácidos através da ação das transaminases ou aminotransferases (Forde e Lea, 2007).

No caso da absorção de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  ser maior que a demanda metabólica da planta, ambas as formas podem ser armazenadas no vacúolo, para posteriormente serem reduzidas no citosol, ou serem translocadas para a parte aérea. Diferente do que ocorre com o amônio, o nitrato pode ser acumulado no vacúolo sem causar efeitos deletérios

(Taiz et al., 2017). No entanto, o acúmulo de nitrato nos vacúolos pode afetar negativamente a regulação osmótica (Li et al., 2013).

Em geral, há espécies que se desenvolvem ou crescem melhor quando supridas apenas com  $\text{NH}_4^+$  (Hessini et al., 2017); outras, somente com o  $\text{NO}_3^-$ ; enquanto outras respondem melhor quando há uma combinação dessas duas formas (Warren e Adams, 2002; Rothstein e Cregg, 2005; Cruz et al., 2006). A preferência por uma dessas fontes depende da demanda da planta e das condições ambientais (Li et al., 2013).

De acordo com Campos et al. (2020), o eucalipto é considerado como tolerante à toxidez por excesso de  $\text{NH}_4^+$ . Pesquisas com *E. globulus*, *E. regnans* e *E. nitens* mostraram que a assimilação de N é maior quando este nutriente é fornecido na forma de  $\text{NH}_4^+$  (Shedley et al., 1995; Garnett e Smethurst, 1999; Garnett et al., 2003). No entanto, em outras espécies de eucalipto, como *E. urophylla*, *E. camaldulensis*, *E. pellita*, *E. grandis*, e o híbrido *E. grandis* x *E. urophylla*, a produção de biomassa é otimizada sob adubação mista com  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  (Grespan et al., 1998; Guimarães et al., 2014; Máximo et al., 2015) enquanto em *E. cloeziana* a produção de biomassa é maior sob adubação nitrogenada somente com  $\text{NO}_3^-$  (Grespan et al., 1998).

#### **2.4 Adubação nitrogenada mista e mitigação dos efeitos da deficiência hídrica**

Estudos realizados por Wang et al. (2018) com mudas de *Camellia oleifera* demonstram que a adubação mista com  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$ , independentemente do regime hídrico, aumenta os teores foliares de N, clorofila, açúcares solúveis e proteínas, e a atividade de enzimas antioxidantes, tais como peroxidase (POD), superóxido dismutase (SOD) e do metabolismo de assimilação de N, tais como a redutase de nitrato (RN), sintetase da glutamina (GS) e sintase do glutamato (GOGAT). Além disso, a adubação mista também pode aumentar a eficiência na absorção de outros nutrientes (Holzschuh et al., 2011; Wang et al., 2018), contribuindo assim para atenuar os efeitos prejudiciais da restrição hídrica (Asharaf et al., 2011; Waraich et al., 2011).

A adubação nitrogenada mista com  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  pode também estimular o acúmulo de auxinas no sistema radicial (Fu et al., 2020; Meier et al., 2020), favorecendo o alongamento e ramificação das raízes laterais (Lima et al., 2010; Hachiya e Sakakibara, 2016; Liu et al., 2019). O aprofundamento do sistema radicial é uma conhecida característica de espécies tolerantes à deficiência hídrica, e o efeito positivo

de diferentes proporções de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  sobre o aumento da razão raiz / parte aérea tem sido observado em espécies como *Populus deltoides* (Woolfolk e Friend, 2003) e *Oryza sativa* (Holzschuh et al., 2011).

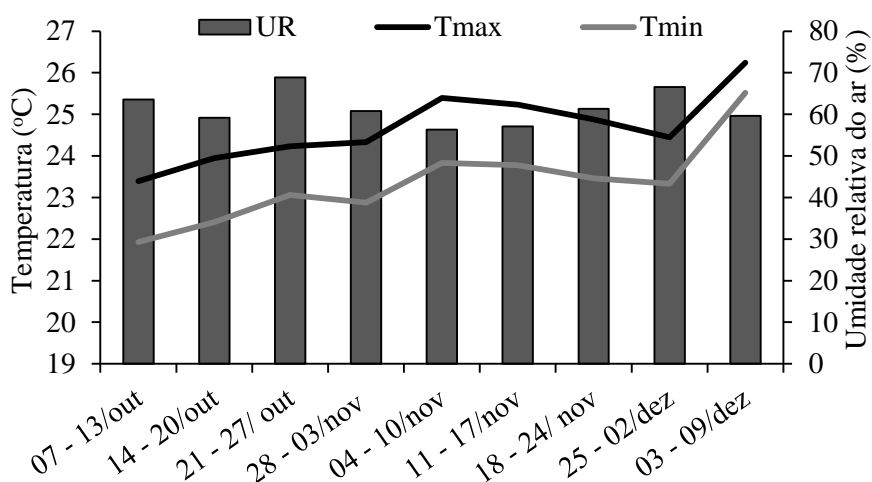
A taxa fotossintética em plantas submetidas à restrição hídrica é condicionada pelo teor foliar de clorofila, concentração de N e a características de permanência da folha (Park e Lee, 2003). O teor de clorofila é maior sob adubação mista com  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  do que sob uma única forma iônica de N (Silva et al., 2010). Segundo Wang et al. (2019), a adubação nitrogenada mista estimula a síntese de auxinas, que promove a fotossíntese, com o consequente aumento no teor de carboidratos, favorecendo o crescimento de folhas e raízes.

Em plantas de arroz submetidas à deficiência hídrica, Cao et al. (2018) verificaram que a adubação com  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  confere maior tolerância à deficiência hídrica do que a adubação apenas com  $\text{NO}_3^-$ , devido ao seu efeito mitigador sobre a redução da taxa fotossintética, prevenindo assim uma maior redução da biomassa e da área foliar. Por outro lado, Zhang et al. (2011a, b) observaram que em plantas de milho a adubação apenas com  $\text{NO}_3^-$  ou a mistura de  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$  aumenta o teor de clorofila e a taxa de fotossíntese, e melhora os mecanismos de defesa antioxidante, conferindo maior tolerância à restrição hídrica.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Condições de cultivo e delineamento experimental**

O estudo foi realizado em casa de vegetação, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) (14°53' Sul, 40°48' oeste; altitude 881 m), localizada em Vitória da Conquista – BA, durante o período de 7 de outubro a 9 de dezembro de 2019. As temperaturas máxima e mínima e a umidade relativa do ar (Figura 1) foram monitoradas por meio de estação meteorológica automática instalada no interior da casa de vegetação.



**Figura 1.** Temperatura máxima (Tmax), temperatura mínima (Tmin) e umidade relativa do ar (UR) durante o período experimental.

O experimento foi montado em delineamento inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 5 x 2, cujos fatores foram proporções de  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  (0,0:1,0 • 0,25:0,75 • 0,50:0,50 • 0,75:0,25 • 1,0:0,0) e regimes hídricos com irrigações equivalentes a 90% e 30% da capacidade de vaso, com quatro repetições, sendo uma planta por vaso. A capacidade de vaso foi determinada pelo método gravimétrico, conforme descrito por Alves et al. (2010).

Mudas de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, com 120 dias de idade, foram transplantadas em vasos plásticos com capacidade para 15 dm<sup>3</sup>, preenchidos com areia lavada. Após o transplante, realizou-se uma primeira adubação, por meio de solução nutritiva (Hoagland e Arnon, 1952), baseada no aumento gradual da sua força iônica (30%, 60% e 100%) a cada três dias, de modo a favorecer a adaptação das mudas ao novo substrato. Aos 21 dias após o transplante, realizou-se uma segunda adubação com solução nutritiva, desta vez, com força iônica total.

Para cada litro de solução nutritiva, os nutrientes foram fornecidos nas seguintes quantidades: 15 mmol de N, nas formas iônicas  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$ , conforme as proporções anteriormente mencionadas, 5 mmol de Ca, 2 mmol de Mg, 1 mmol de P, 6 a 16 mmol de K, 2 mmol de S, 0 a 25 mmol de Cl, 46,24 µmol de B, 89,53 µmol de Fe, 9,10 µmol de Mn, 0,76 µmol de Zn, 0,31 µmol de Cu e 0,1 µmol de Mo, diluídos em água deionizada em volume suficiente para manter a umidade do substrato em 90% da capacidade de vaso. A condutividade elétrica da solução foi mantida abaixo de 1,5 mS cm<sup>-1</sup> e o pH foi mantido em 5,5 ± 0,2, utilizando-se solução de HCl 0,1M.

Aos 45 dias após o transplante, foram estabelecidos dois regimes hídricos caracterizados por: (1) irrigação 90%, com suprimento de água correspondente a 90% da capacidade de vaso; e (2) irrigação 30%, com suprimento de água correspondente a 30% da capacidade de vaso. O suprimento de água realizou-se de acordo com as quantidades requeridas para a manutenção de cada regime hídrico, com base na verificação diária dos pesos dos vasos.

### **3.2 Avaliações**

Aos 15 dias após a imposição dos regimes hídricos, realizaram-se as seguintes avaliações: (1) parâmetros indicadores do estado hídrico da planta, tais como potencial hídrico foliar e teor relativo de água; (2) características relacionadas a trocas gasosas, tais como transpiração, condutância estomática, eficiência intrínseca no uso da água e fotossíntese líquida; (3) características bioquímicas e metabólicas, tais como teores de clorofilas e carotenoides, teores de açúcares solúveis e redutores, amido e prolina, e a atividade da redutase de nitrato; e (4) características morfofisiológicas relacionadas ao crescimento, tais como altura de plantas, diâmetro de colo, área foliar total, número de folhas, massa seca de folhas, caule e raízes, razão entre massa seca de parte aérea e de raízes, e razão entre altura de planta e diâmetro de caule.

#### **3.2.1 Parâmetros indicadores do estado hídrico**

Determinou-se o potencial hídrico foliar em horário pouco antes do amanhecer, tomando-se como referência folhas adultas e completamente expandidas, localizadas na parte mediana da copa, utilizando-se uma câmara de pressão (Modelo 1000, PMS) (Scholander et al., 1965). Em uma folha oposta à que se determinou o potencial hídrico foliar, determinou-se o teor relativo de água (TRA), tomando-se como referência 10 discos extraídos do limbo foliar, com auxílio de um perfurador, nos quais se verificou a massa fresca (MF) instantânea; a massa túrgida (MT), após submersão dos discos foliares em água deionizada por 24 h; e a massa seca (MS), após secagem em estufa com circulação forçada de ar, a  $70\text{ °C} \pm 5$ , até atingir massa constante. O TRA foi calculado com base na seguinte fórmula (Weatherley, 1950):



$$\text{TRA} = \frac{(\text{MF} - \text{MS})}{(\text{MT} - \text{MS})} \times 100 \quad (1)$$

### 3.2.2 Características relacionadas a trocas gasosas

As taxas de fotossíntese líquida ( $A$ ), transpiração ( $E$ ) e condutância estomática ( $g_s$ ) foram determinadas por meio da avaliação de trocas gasosas, entre 8 e 11 h da manhã, tomando-se como referência folhas adultas e completamente expandidas, localizadas na porção mediana da copa, utilizando-se um analisador de gases por infravermelho (Infrared Gas Analyser – IRGA LCPro, ADC, UK). Durante a mensuração dessas características, as plantas receberam irradiância de 900  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . A concentração de  $\text{CO}_2$  no ar fornecido ao IRGA foi de 375  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ . A eficiência intrínseca no uso da água ( $E_i\text{UA}$ ) foi calculada pela razão entre a taxa de fotossíntese líquida e a condutância estomática ( $E_i\text{UA} = A g_s^{-1}$ ).

### 3.2.3 Características bioquímicas e metabólicas

Para quantificar os teores de pigmentos fotossintéticos, assim como para avaliar a atividade da redutase de nitrato, foram utilizadas folhas frescas completamente expandidas e recém colhidas. Para quantificar os teores de açúcares redutores, amido e prolina, foram utilizados extratos obtidos das folhas, após a sua secagem, trituração e homogeneização.

#### 3.2.3.1 Pigmentos fotossintéticos

Para a determinação dos teores dos pigmentos fotossintéticos, quatro discos foliares (7 mm de diâmetro) foram colocados em um tubo contendo 4 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) saturado com  $\text{CaCO}_3$  (Hiscox e Israelstam, 1979), por 12 h em ambiente escuro, onde permaneceram para extração de clorofilas e carotenoides. Os teores dos pigmentos fotossintéticos foram determinados em espectrofotômetro, tendo como referência os comprimentos de onda 480, 646,8 e 663,8 nm para as quantificações de clorofila total (CLO) e carotenoides, respectivamente (equações 2 e 3). Os resultados foram expressos em  $\mu\text{g cm}^{-2}$ , de acordo com o método de Lee et al. (1987).

$$\text{CLO} = \{[(12 * A_{663,8} - 3,11 * A_{646,8}) * V] / (1000 * W)\} + \{[(20 * A_{646,8} - 4,68 * A_{663,8}) * V] / (1000 * W)\} \quad (2)$$

$$\text{Carotenoides} = [(1000 * A_{480} - 1,12 * C_{1a} - 34,07 * C_{1b}) / 245] / 1000 * W \quad (3)$$

Em que:

A = Absorbância no comprimento de onda indicado (nm);

V = Volume final do extrato clorofila – DMSO (mL);

W = Área do disco foliar (cm<sup>2</sup>).

### 3.2.3.2 Extração e quantificação de açúcares redutores

Os açúcares redutores foram extraídos de uma mistura de 200 mg de folhas secas e 15 mL de solução tampão KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,1 M, seguida de três centrifugações por 45 minutos, a 2.500 g, para posterior coleta do sobrenadante, que foi considerado como o extrato. Determinou-se o teor de açúcares redutores conforme método proposto por Miller (1959), baseado na formação de um meio reacional contendo 0,8 mL do extrato, 0,5 mL de ácido dinitrosalicílico (DNS) e 0,4 mL de água deionizada, mantido em banho-maria a 100 °C, por cinco minutos. Após o resfriamento, completou-se o volume com água deionizada para 5 mL, para leituras espectrofotométricas a 540 nm.

### 3.2.3.3 Teor de amido

A quantificação do teor de amido seguiu o método estabelecido na Instrução Normativa nº 20 (Brasil, 1999). Assim, uma amostra de 0,25 g de folhas secas previamente desengorduradas em hexano foi adicionada a 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M e aquecida a 100 °C, por 1 hora. Após este período, adicionou-se água, completando o volume para 250 mL. Em seguida, coletou-se 1 mL dessa solução, para resfriamento a 0 °C, juntamente com 5 mL de solução de antrona 0,005 M. Após esse procedimento, a mistura foi aquecida a 100 °C, por 11 min, seguida de resfriamento sob temperatura ambiente. As leituras espectrofotométricas foram feitas a 620 nm.

#### **3.2.3.4 Extração e quantificação de prolina**

A prolina foi extraída de uma mistura de 200 mg de folhas secas e 6 mL de ácido sulfosalicílico 3% (p/v), seguida de centrifugação a 7500 rpm, por 10 minutos, para posterior coleta do sobrenadante, que foi considerado como o extrato. A determinação do teor de prolina foi realizada pelo método proposto por Bates et al. (1973). Uma alíquota de 2 mL do extrato foi adicionada a um meio reacional formado por 2 mL de solução ácida de ninhidrina 0,014 M e 2 mL de ácido acético glacial, aquecido a 100 °C, por 1 hora, seguido de resfriamento com gelo. Em seguida, foram adicionados 4 mL de tolueno, com agitação por 20 segundos, para a completa extração da prolina. O sobrenadante foi então coletado para a leitura em espectrofotômetro a 520 nm.

#### **3.2.3.5 Atividade da enzima redutase de nitrato**

Avaliou-se a atividade *in vivo* da redutase de nitrato conforme Guimarães et al. (2014). O ensaio enzimático baseou-se em uma amostra de 500 mg de folhas fragmentadas, que foram adicionadas a 5 mL de um meio de incubação constituído de solução tampão  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,1 M, pH 7,5, n-propanol 3% (v/v) e  $\text{KNO}_3$  0,1 M, e mantido em banho-maria a 30 °C, sob agitação no escuro. Após 1 hora, coletou-se 1 mL do meio de incubação, adicionando-o a uma solução contendo 1 mL de sulfanilamida 1% (p/v) em HCl 1,5 M, 1 mL de n-1-naftiletilenodiamina di-HCl 0,02% (p/v) e 1 mL de água destilada. Para a quantificação de nitrito, realizou-se leitura espectrofotométrica a 540 nm.

#### **3.2.4 Características morfofisiológicas relacionadas ao crescimento**

A altura de planta foi determinada utilizando-se régua graduada, posicionada paralelamente ao caule, medindo-se desde o solo até a gema apical do fuste. O diâmetro do colo foi determinado com auxílio de um paquímetro digital, posicionado perpendicular ao caule, a 1 cm acima do solo. O número de folhas correspondeu à quantidade total de folhas por planta. A área foliar total foi determinada com o auxílio de um medidor de área foliar – Area Meter (LICOR, modelo LI-3100). A massa seca de folhas, caule e raízes foi obtida a partir da secagem de cada uma dessas partes em

estufa, com circulação forçada de ar, a  $70\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5$ , até atingir massa constante, seguida de pesagem em balança de precisão.

### 3.3 Análise estatística dos dados

Os dados foram submetidos à análise de variância, onde as médias do fator regime hídrico foram comparadas pelo teste de Tukey, e modelos de regressão foram ajustados para o fator proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ . Na escolha dos modelos de regressão, considerou-se a significância dos coeficientes *beta* pelo teste *t* e a magnitude do coeficiente de determinação. Para as características que não se ajustaram a modelos de regressão, os efeitos das proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  foram comparados pelo teste de Tukey. As análises foram realizadas utilizando o sistema computacional de análise estatística SISVAR (Ferreira, 2011).

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Parâmetros indicadores do estado hídrico

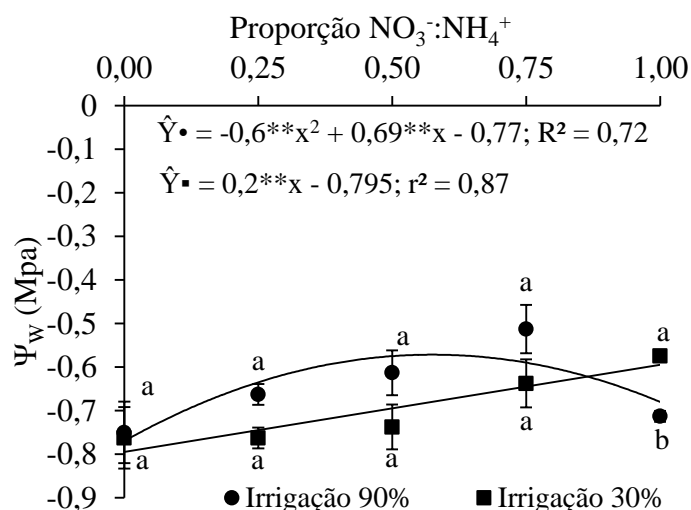
Dentre os parâmetros indicadores do estado hídrico, verificou-se interação significativa entre as proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  e os regimes hídricos somente em relação ao potencial hídrico foliar. Analisando-se os efeitos de cada fator, isoladamente, a proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  influenciou tanto o potencial hídrico foliar como o teor relativo de água. Contudo, esses dois parâmetros não foram afetados pelos regimes hídricos (Tabela 1).

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância e coeficiente de variação (CV) para potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) e teor relativo de água (TRA) em plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, em função da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  e dos regimes hídricos (RH).

Fontes de variação	GL	Quadrados médios	
		$\Psi_w$	TRA
$\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$	4	0,038**	274,84**
RH	1	0,020 <sup>ns</sup>	14,53 <sup>ns</sup>
$(\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+) \times (\text{RH})$	4	0,025*	62,62 <sup>ns</sup>
Erro	30	0,008	47,62
CV (%)		13,37	8,17

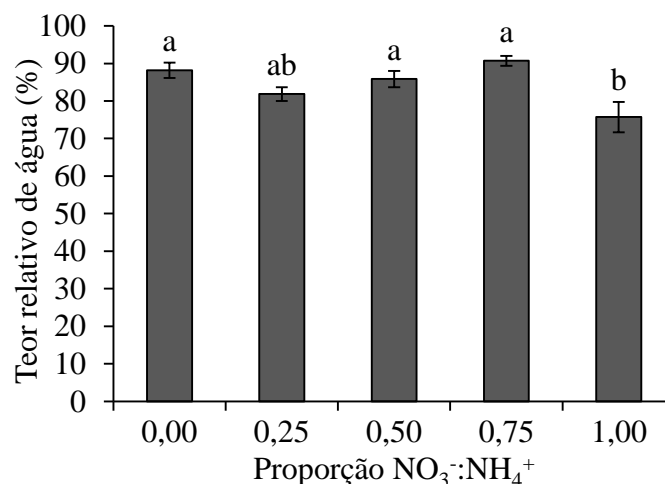
<sup>ns</sup> não significativo, \* significativo ( $p < 0,05$ ) \*\* ( $p < 0,01$ ), de acordo com o teste F.

Em relação ao potencial hídrico foliar, nas plantas sob irrigação 90% ocorreu um efeito quadrático, como resposta ao aumento na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ . Houve aumento em  $\Psi_w$  até a proporção 0,50:0,50, tornando-se menor a partir da proporção de  $\text{NO}_3^-$  estimada em 0,58. Sob irrigação 30%, contudo, o aumento da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  resultou em aumento linear de  $\Psi_w$ . O efeito dos regimes hídricos foi significativo somente na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  de 1,0:0,0, em que  $\Psi_w$  foi maior sob irrigação 30% (Figura 2).



**Figura 2.** Potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) em plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, em função da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , sob irrigações 90% e 30%. Médias ( $n = 4$ ) com letras minúsculas iguais, em cada proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , indicam que os regimes hídricos não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,01$ ). \*\* significativo ( $p < 0,01$ ), de acordo com o teste  $t$ .

Quanto ao teor relativo de água, independentemente do regime hídrico, houve uma queda mais expressiva na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  de 1,0:0,0, que foi similar ao valor obtido na proporção de 0,25:0,75 e inferior às demais proporções (Figura 3).



**Figura 3.** Teor relativo de água em plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, em função da proporção NO<sub>3</sub><sup>-</sup>:NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Médias (n = 4) seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,01$ ).

#### 4.2 Características relacionadas a trocas gasosas

Houve interação significativa entre as proporções NO<sub>3</sub><sup>-</sup>:NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e os regimes hídricos para todas as características relacionadas às trocas gasosas (Tabela 2).

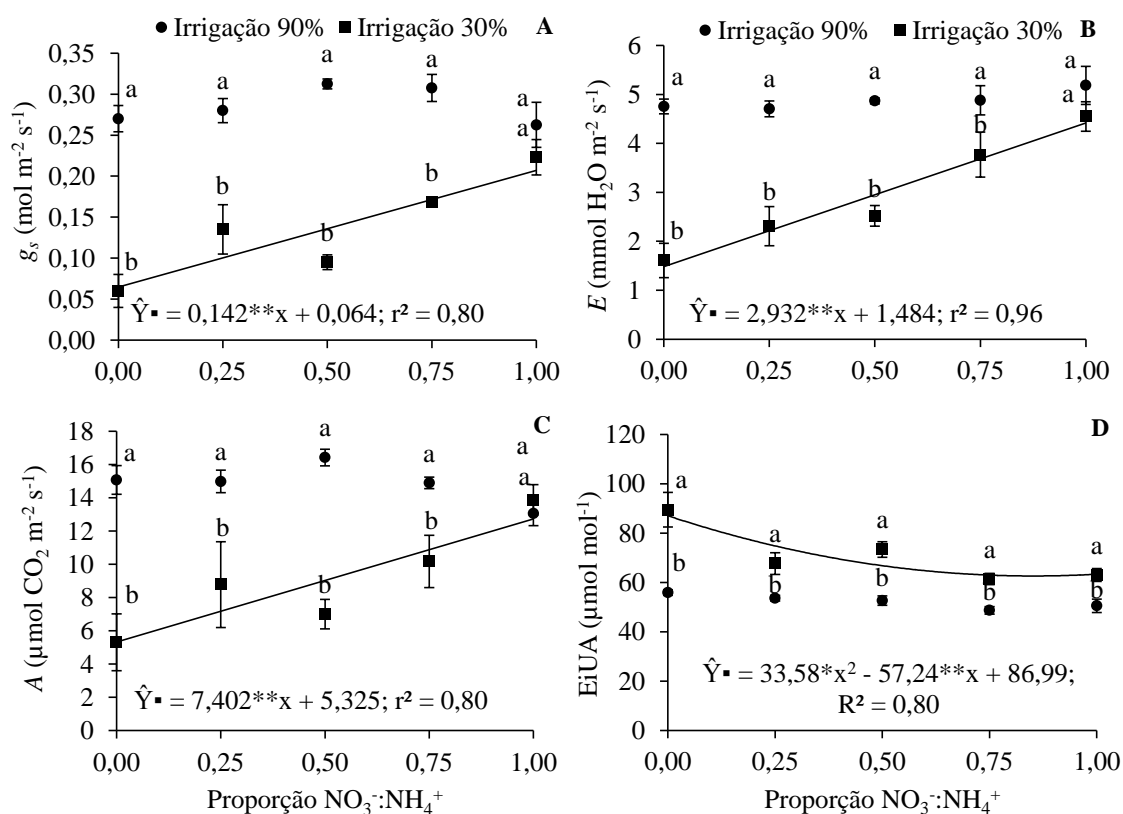
**Tabela 2.** Resumo da análise de variância e coeficiente de variação (CV) para condutância estomática ( $g_s$ ), transpiração ( $E$ ), fotossíntese líquida ( $A$ ), e eficiência intrínseca do uso da água (EiUA) em plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, em função da proporção NO<sub>3</sub><sup>-</sup>:NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e dos regimes hídricos (RH).

Fontes de variação	GL	Quadrados médios			
		$g_s$	$E$	$A$	EiUA
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> :NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	4	0,008*	3,65**	11,59**	384,69**
RH	1	0,226**	37,13**	343,28**	3499,74**
(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> :NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) x (RH)	4	0,041**	2,10**	36,83**	161,04**
Erro	30	0,002	0,34	6,33	42,16
CV (%)		21,55	14,93	21,04	10,54

<sup>ns</sup> não significativo, \* significativo ( $p < 0,05$ ) \*\* ( $p < 0,01$ ), de acordo com o teste F.

O aumento na proporção NO<sub>3</sub><sup>-</sup>:NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, nas plantas sob irrigação 30%, causou aumentos lineares em  $A$ ,  $E$  e  $g_s$ , e uma discreta redução polinomial quadrática em EiUA. Contudo, sob irrigação 90%, essas características não foram afetadas por variações na proporção NO<sub>3</sub><sup>-</sup>:NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

O desempenho de  $A$ ,  $E$  e  $g_s$ , sob irrigação 90%, foi maior que sob irrigação 30%, em quase todas as proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , exceto na proporção 1,0:0,0, onde não houve diferença entre os regimes hídricos. O desempenho de EiUA, por sua vez, foi sempre maior sob irrigação 30%, independentemente da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ .



**Figura 4.** Condutância estomática ( $g_s$ ) [A], transpiração ( $E$ ) [B], fotossíntese líquida ( $A$ ) [C] e eficiência intrínseca no uso de água (EiUA) [D], em plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, em função da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , sob irrigações 90% e 30%. Médias ( $n = 4$ ) com letras minúsculas iguais, em cada proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , indicam que os regimes hídricos não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,01$ ).  $^{**}$  significativo ( $p < 0,01$ ), de acordo com o teste  $t$ .

### 4.3 Características bioquímicas e metabólicas

Houve interação significativa entre as proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  e os regimes hídricos para os teores de açúcares redutores, amido e prolina, e para a atividade da redutase de nitrato. O teor de clorofila total foi influenciado pelos dois fatores, mas apenas quando analisados separadamente. O teor de carotenoides foi afetado somente pelos regimes hídricos (Tabela 3).

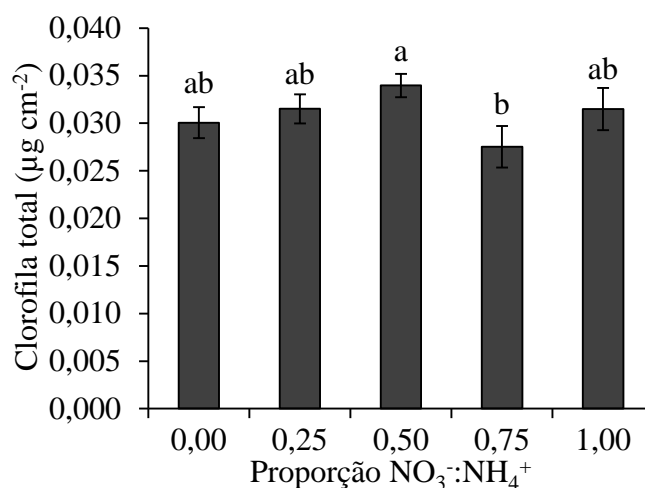
**Tabela 3.** Resumo da análise de variância e coeficiente de variação (CV) para os teores de clorofila total (CLO), carotenoides (CAR), açúcares redutores (AR), amido (AMI), prolina (PRO) e atividade da redutase do nitrato (RN) em plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, em função da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  e dos regimes hídricos (RH).

Fontes de variação	GL	Quadrados médios					
		CLO	CAR	AR	AMI	PRO	RN
$\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$	4	0,00005*	$1,34 \cdot 10^{-7\text{ns}}$	0,054**	0,00006*	0,016**	84,00**
RH	1	0,00032**	$8,12 \cdot 10^{-7**}$	0,623**	0,02265**	0,179**	54,35**
$(\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+) \times (\text{RH})$	4	0,00003 <sup>ns</sup>	$1,05 \cdot 10^{-7\text{ns}}$	0,059**	0,00030**	0,019**	30,03**
Erro	30	0,00002	$4 \cdot 10^{-6}$	0,003	0,00002	0,002	2,03
CV (%)		13,11	8,99	5,55	3,93	17,04	20,08

<sup>ns</sup> não significativo, \*significativo ( $p < 0,05$ ) \*\* ( $p < 0,01$ ), de acordo com o teste F.

CLO =  $\mu\text{g cm}^{-2}$ ; CAR =  $\mu\text{g cm}^{-2}$ ; AR =  $\text{mmol g MS}^{-1}$ ; AMI =  $\text{g g MS}^{-1}$ ; PRO =  $\mu\text{mol g MS}^{-1}$ ; RN =  $\mu\text{g NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{MF h}^{-1}$ .

Referindo-se ao efeito das proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  sobre o teor de clorofila total, este foi maior na proporção 0,50:0,50 do que na proporção 0,75:0,25. Nas demais proporções, o teor de clorofila total alcançou níveis intermediários (Figura 5). Quanto ao efeito dos regimes hídricos sobre os dois pigmentos fotossintéticos, os teores de clorofila total e carotenoides foram maiores sob irrigação 30% do que sob irrigação 90% (Tabela 4).



**Figura 5.** Teor de clorofila total em folhas de plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, em função da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , independentemente do regime hídrico. Médias ( $n = 4$ ) seguidas de letras minúsculas iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,01$ ).

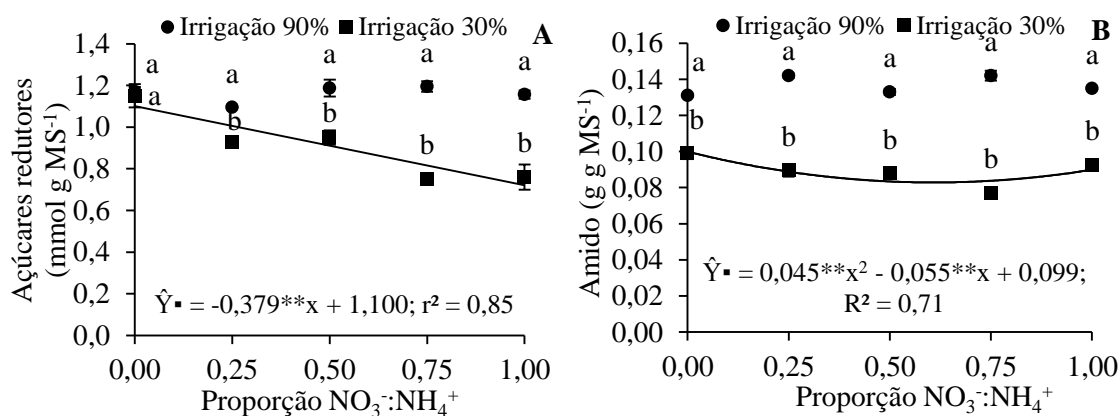


**Tabela 4.** Efeitos dos regimes hídricos sobre os teores de clorofila total e carotenoides em folhas de plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, independentemente da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ .

Pigmentos fotossintéticos	Regime hídrico	
	Irrigação 90%	Irrigação 30%
Clorofila total ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )	0,028092 $\pm$ 0,0012 b	0,033737 $\pm$ 0,0007 a
Carotenoides ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )	0,002545 $\pm$ 0,00007 b	0,002830 $\pm$ 0,00004 a

Médias (n = 4) acompanhadas de letras minúsculas diferentes, na mesma linha, diferem entre si, de acordo com o Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

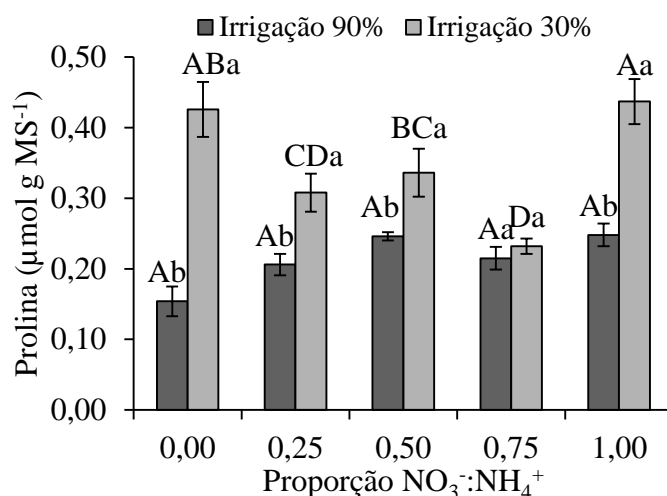
Em relação ao teor de açúcares redutores (AR), nas plantas adubadas somente com  $\text{NH}_4^+$ , não houve diferença entre os regimes hídricos. No entanto, nas demais proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , o teor de AR foi menor sob irrigação 30% do que sob 90%. Nas plantas sob irrigação 30%, o aumento na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  causou um decréscimo linear no teor de AR (Figura 6A). O teor de amido, por sua vez, foi menor sob irrigação 30% do que sob 90%, independentemente da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ . Nas plantas sob irrigação 30%, o aumento na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  causou um efeito quadrático com discretas variações, em que o teor de amido diminuiu até a proporção estimada em 0,61:0,39, seguido de um aumento (Figura 6B).



**Figura 6.** Teores de açúcares redutores [A] e amido [B] em folhas de plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, em função da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , sob irrigações 90% e 30%. Médias (n = 4) com letras minúsculas iguais, em cada proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , indicam que os regimes hídricos não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,01$ ). \*\* significativo ( $p < 0,01$ ), de acordo com o teste *t*.

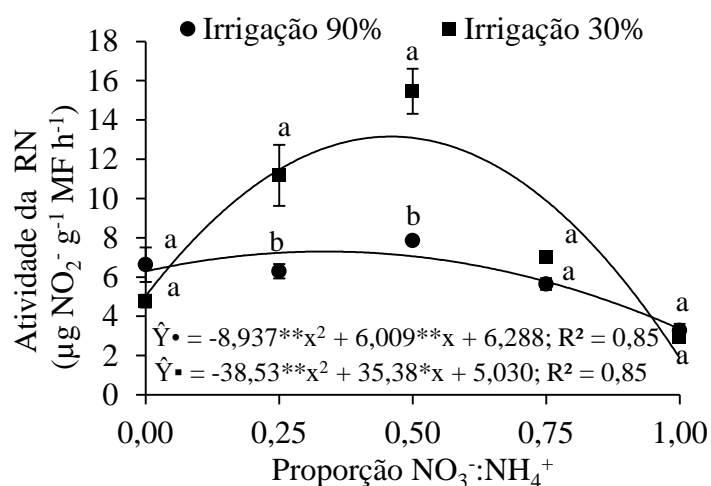
O teor de prolina nas plantas sob irrigação 30% foi maior que sob 90%, em quase todas as proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , exceto em 0,75:0,25, onde não houve diferença entre os regimes hídricos. Sob irrigação 30%, o aumento no teor de prolina foi mais

intenso em plantas adubadas exclusivamente com  $\text{NO}_3^-$  ou  $\text{NH}_4^+$  do que nas demais proporções (Figura 7).



**Figura 7.** Teor de prolina em folhas de plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, em função da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , sob irrigações 90% e 30%. Letras minúsculas comparam médias ( $n = 4$ ) entre os regimes hídricos, enquanto as maiúsculas, entre as proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ . Letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

A atividade da redutase de nitrato (RN) não foi afetada pelos regimes hídricos, nas plantas adubadas com uma única fonte de N, assim como na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  de 0,75:0,25. Contudo, nas proporções 0,25:0,75 e 0,50:0,50, a atividade enzimática foi maior sob irrigação 30% do que sob 90%. Considerando-se a irrigação 90%, a atividade da RN registrou apenas um leve declínio, com uma resposta ao aumento na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ . Sob irrigação 30%, contudo, o aumento da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  causou um efeito quadrático, aumentando a atividade enzimática até uma proporção estimada em 0,46:0,54, com posterior declínio (Figura 8).



**Figura 8.** Atividade da redutase de nitrato (RN) em folhas de plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, em função da proporção NO<sub>3</sub><sup>-</sup>:NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, sob irrigações 90% e 30%. Médias (n = 4) com letras minúsculas iguais, em cada proporção NO<sub>3</sub><sup>-</sup>:NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, indicam que os regimes hídricos não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,01$ ). \* significativo ( $p < 0,01$ ) e \*\* ( $p < 0,05$ ), de acordo com o teste  $t$ .

#### 4.4 Características morfofisiológicas relacionadas ao crescimento

As características morfofisiológicas não foram influenciadas pela interação entre as proporções NO<sub>3</sub><sup>-</sup>:NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e os regimes hídricos. Contudo, houve significância nos efeitos de cada fator isolado sobre altura de plantas, diâmetro de caule, área foliar e massa seca de folhas, caule e raiz. O número de folhas, assim como as razões altura/diâmetro e massa seca de parte aérea/raiz, não foram afetados, nem mesmo considerando-se cada fator, isoladamente (Tabela 5).

Em geral, houve um aumento nos valores médios das características morfofisiológicas, como uma resposta ao aumento na proporção NO<sub>3</sub><sup>-</sup>:NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (Tabela 6). A altura de plantas foi maior na proporção 0,50:0,50, quando comparada aos valores das proporções 0,0:1,0, 0,25:0,75 e 0,75:0,25; e similar aos valores da proporção 1,0:0,0. O diâmetro de caule, a área foliar e a massa seca de caule foram maiores na proporção 0,50:0,50, quando comparados às proporções 0,0:1,0 e 0,25:0,75; e similar aos valores nas proporções 0,75:0,25 e 1,0:0,0. A massa seca de folhas foi maior nos tratamentos em que a proporção de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> foi igual ou superior à de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Na raiz, a massa seca foi maior na proporção 0,75:0,25, quando comparada aos valores das proporções de 0,0:1,0 e 0,25:0,75; e similar aos valores das proporções 0,50:0,50 e 1,0:0,0.

**Tabela 5.** Resumo da análise de variância e coeficiente de variação (CV) para altura de plantas (H), diâmetro de caule (D), número de folhas (NF), área foliar (AF), razão altura/diâmetro (H/D), massa seca de folhas, caule e raiz (MSF, MSC e MSR) e razão massa seca de parte aérea/raiz (PA/R) em plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, em função da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  e dos regimes hídricos (RH).

Fontes de variação	GL	Quadrados médios				
		H	D	NF	AF	H/D
$\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$	4	59,10**	1,83**	175,76 <sup>ns</sup>	393834,61**	0,38 <sup>ns</sup>
RH	1	150,16**	9,22**	302,50 <sup>ns</sup>	676231,42**	1,52 <sup>ns</sup>
$(\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+) \times (\text{RH})$	4	13,86 <sup>ns</sup>	0,47 <sup>ns</sup>	44,50 <sup>ns</sup>	157176,27 <sup>ns</sup>	0,97 <sup>ns</sup>
Erro	30	6,85	0,28	95,13	60710,05	0,43
CV (%)		5,92	8,08	16,37	15,29	9,50

Fontes de variação	GL	Quadrados médios			
		MSF	MSC	MSR	PA/R
$\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$	4	24,90**	9,21**	17,30**	0,36 <sup>ns</sup>
RH	1	115,36**	52,88**	27,19**	0,80 <sup>ns</sup>
$(\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+) \times (\text{RH})$	4	2,59 <sup>ns</sup>	1,58 <sup>ns</sup>	2,95 <sup>ns</sup>	0,17 <sup>ns</sup>
Erro	30	1,32	1,29	2,30	0,26
CV (%)		11,44	19,00	19,11	24,35

<sup>ns</sup> não significativo; \*\* significativo ( $p < 0,01$ ), de acordo com o teste F.

**Tabela 6.** Efeitos da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  sobre altura de plantas (H), diâmetro de caule (D), área foliar (AF) e massa seca de folhas, caule e raiz (MSF, MSC e MSR), em plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, independentemente do regime hídrico.

Características	Proporção $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$				
	0,0:1,0	0,25:0,75	0,50:0,50	0,75:0,25	1,0:0,0
H (cm)	41,50 ± 0,68 c	41,94 ± 1,76 bc	48,18 ± 1,54 a	44,12 ± 1,08 bc	45,31 ± 0,52 ab
D (cm)	6,18 ± 0,37 bc	5,83 ± 0,23 c	7,05 ± 0,24 a	6,73 ± 0,26 ab	6,63 ± 0,17 ab
AF (cm <sup>2</sup> )	1320,49 ± 88,75 b	1565,54 ± 137,45 b	1942,70 ± 106,70 a	1599,48 ± 98,36 ab	1628,26 ± 89,42 ab
MSF (g)	7,52 ± 0,69 b	8,33 ± 0,96 b	10,54 ± 0,92 a	10,58 ± 0,65 a	10,68 ± 0,54 a
MSC (g)	5,24 ± 0,74 bc	4,52 ± 0,40 c	7,15 ± 0,59 a	6,35 ± 0,73 ab	6,61 ± 0,41 ab
MSR (g)	5,96 ± 0,47 c	7,09 ± 0,90 bc	8,52 ± 0,67 ab	8,74 ± 0,58 a	8,34 ± 0,29 ab

Médias (n = 4) acompanhadas de letras minúsculas iguais, na mesma linha, não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

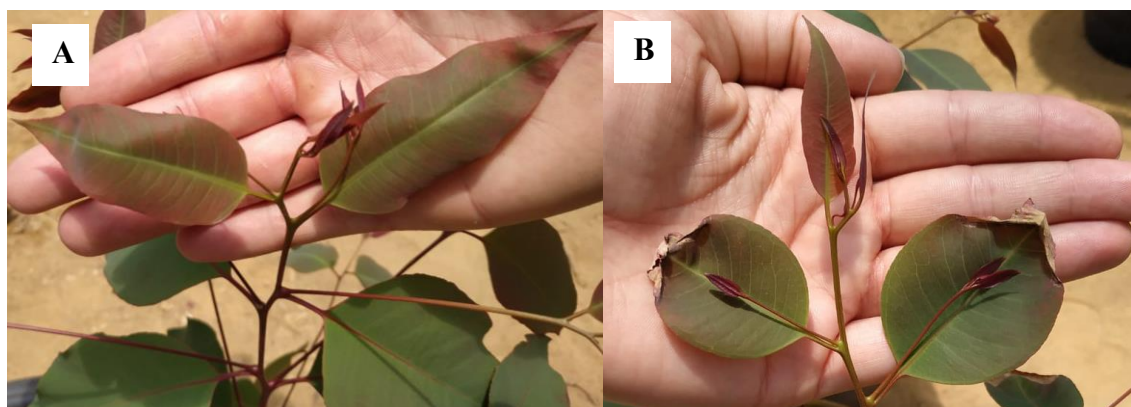
Em relação aos regimes hídricos, a limitação no suprimento de água afetou negativamente todas as características morfofisiológicas (Tabela 7). Sob irrigação 30%, os valores sofreram um decréscimo, que foi mais intenso na massa seca de folhas e caule, com reduções de 28,96 e 32,30%, respectivamente, comparando-se com plantas sob irrigação 90%.

**Tabela 7.** Efeitos dos regimes hídricos sobre altura de plantas (H), diâmetro de caule (D), área foliar (AF) e massa seca de folhas, caule e raiz (MSF, MSC e MSR), em plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, clone AEC 144, independentemente da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ .

Característica	Regimes hídricos	
	Irrigação 90%	Irrigação 30%
H (cm)	46,15 ± 0,85 a	42,27 ± 0,76 b
DC (cm)	6,97 ± 0,17 a	6,01 ± 0,13 b
AF (cm <sup>2</sup> )	1.741,32 ± 83,92 a	1.481,27 ± 59,57 b
MSF (g)	11,74 ± 0,46 a	8,34 ± 0,42 b
MSC (g)	7,12 ± 0,30 a	4,82 ± 0,27 b
MSR (g)	8,76 ± 0,41 a	7,11 ± 0,48 b

Médias (n = 4) acompanhadas de letras minúsculas diferentes, na mesma linha, diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

As plantas submetidas a proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  0,25:0,75 e 0,0:1,0 exibiram sintomas de toxidez por  $\text{NH}_4^+$  aos 15 dias após a aplicação da solução nutritiva. Os primeiros sintomas se caracterizaram pelo aparecimento de coloração arroxeada a avermelhada no bordo das folhas e enrolamento do bordo foliar superior (Figura 9A), sendo visualizados em folhas no estágio B (Silva et al., 2020). Posteriormente, no estágio C, esses sintomas evoluíram para necrose (Figura 9B).



**Figura 9.** Sintomas de toxidez por  $\text{NH}_4^+$  em plantas jovens de eucalipto submetidas a proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  0,25:0,75 e 0,0:1,0.

## 5 DISCUSSÃO

A variação na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  afetou o comportamento dos estômatos nas plantas sob restrição hídrica, refletindo na intensidade das trocas gasosas foliares. Sob irrigação 30%, o aumento na proporção de  $\text{NO}_3^-$  favoreceu o aumento da  $g_s$  (Figura 4A),

e esta deve ter sido a causa mais provável para o aumento nas taxas de transpiração e fotossíntese (Figuras 4B e 4C). O aumento da taxa de transpiração implica maior eliminação de água pelas folhas, constituindo-se em desvantagem para plantas submetidas à restrição hídrica. O aumento da transpiração pode ser decorrente tanto de uma maior regulação osmótica, promovida pelo aumento na concentração de  $\text{NO}_3^-$  na solução nutritiva (Mcintyre, 1997; Lopes e Araus, 2006), como de uma diminuição na concentração de  $\text{NH}_4^+$ , minimizando, assim, os efeitos negativos deste cátion na absorção de  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{Ca}^{2+}$  (Roosta e Schjoerring, 2007; Esteban et al., 2016), que exercem funções de regulação osmótica celular. O  $\text{NH}_4^+$  exerce um efeito antagônico na absorção de  $\text{K}^+$  (Xu et al., 2002; Lu et al., 2005), desta forma, o aumento na sua concentração, possivelmente, dificultou a absorção de  $\text{K}^+$ , o que explica a redução na condutância estomática, já que o  $\text{K}^+$  atua na turgescência das células guardas, e favorece a abertura dos estômatos (Andrés et al., 2014). Já o  $\text{NO}_3^-$ , por sua vez, também exerce funções osmóticas, e vários transportadores e canais desse ânion são associados ao comportamento estomático (Guo et al., 2003; Wang et al., 2012), o que explica o aumento da condutância estomática, com o aumento na proporção de nitrato.

O efeito do aumento na proporção de  $\text{NO}_3^-$  sobre a taxa fotossintética pode estar relacionado ao processo de redução do próprio nitrato nas folhas, que ajuda a dissipar o excesso de energia luminosa por meio do consumo de equivalentes redutores, sendo um importante mecanismo fotoprotetor para adaptar o aparelho fotossintético à deficiência hídrica (Yi et al., 2014). Desta forma, o custo energético adicional associado à redução do nitrato pode ser compensado pela regulação positiva da fotossíntese (Rothstein e Cregg, 2005; Bown et al., 2010). Além disso, o aumento na proporção de  $\text{NO}_3^-$  também pode aumentar a capacidade antioxidante das plantas, mitigando os efeitos da restrição hídrica através da neutralização de espécies reativas de oxigênio (Zhang et al., 2011).

O efeito positivo do aumento na proporção de  $\text{NO}_3^-$  sobre a taxa fotossintética também se deve, em parte, à concomitante redução na proporção de  $\text{NH}_4^+$ , minimizando, assim, os efeitos negativos desse cátion sobre as trocas gasosas. Considerando-se que proporções de  $\text{NH}_4^+$  superiores a 0,50 afetaram negativamente o acúmulo de massa seca das raízes (Tabela 6), presume-se que o acúmulo desse cátion pode ter causado redução na absorção de água, acentuando o estresse hídrico. Ademais, o excesso de amônio também ocasiona o fechamento estomático (Foyer et al., 2003), que é evidenciado pela redução na  $g_s$ , reduzindo a taxa fotossintética. Estudos também comprovam que proporções de  $\text{NH}_4^+$ , maiores que  $\text{NO}_3^-$ , afetam negativamente as trocas

gasosas em outras espécies, como morango, cana-de-açúcar e abeto, mesmo sob condições hídricas ideais (Rothstein e Cregg, 2005; Tabatabaei et al., 2006; Boschiero et al., 2019; Pissolato et al., 2019). Neste estudo, entretanto, não foram observadas variações significativas nas trocas gasosas das plantas sob irrigação 90%, em função das proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , corroborando, assim, os resultados encontrados por Guimarães et al. (2014) em *Eucalyptus urophylla*.

Sob condição de restrição hídrica, as plantas tendem a fechar parcialmente os estômatos, ocasionando redução na condutância estomática, transpiração e taxa fotossintética (Sharma et al., 2020). Neste estudo, os resultados indicam que o aumento na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  reduziu o impacto da restrição hídrica sobre as trocas gasosas (Figura 4) e pode ter favorecido um aumento na absorção de água pelas plantas, compensando as perdas por transpiração, tendo em vista o aumento no  $\Psi_w$  foliar (Figura 2). Esses efeitos sugerem ainda que o aumento na proporção de  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  até a proporção de 0,75:0,25 pode ter contribuído para preservar o teor relativo de água na folha (Figura 3), apesar do aumento na transpiração.

Nas plantas sob restrição hídrica, o aumento em  $\Psi_w$  concomitante ao aumento na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  corrobora os resultados encontrados por Faustino et al. (2015) em *Pinus taeda*. Segundo estes autores, a adubação com nitrato induz alterações no peso seco e na condutância hidráulica das raízes, tornando as plantas mais tolerantes à seca. Por outro lado, alguns estudos mostram redução na absorção de água e queda no  $\Psi_w$  em outras espécies submetidas a estresse hídrico e adubadas com amônio (Quebedeaux e Qzbun, 1973; Pill e Lambeth, 1977; Wu et al., 2017), sugerindo que o aumento em  $\Psi_w$  verificado no presente estudo também pode ser decorrente de redução na proporção de  $\text{NH}_4^+$ . Entretanto, nas plantas submetidas à irrigação 90%, proporções de  $\text{NO}_3^-$  superiores a 0,58 causaram decréscimo no  $\Psi_w$ , que atingiu o menor valor na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  1,0:0,0, em comparação com as plantas sob restrição hídrica.

A EiUA foi maior nas plantas sob irrigação 30% do que sob 90%, independentemente da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  (Figura 4D), e isso pode estar relacionado à diminuição na condutância estomática, devido ao fechamento dos estômatos, causado pela restrição hídrica (Figura 4A e 4B). Nas plantas sob irrigação 30%, o decréscimo na EiUA concomitante ao aumento na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  pode ser atribuído a um aumento mais pronunciado na condutância estomática do que na fotossíntese líquida, como resposta ao aumento na concentração de  $\text{NO}_3^-$ . Por outro lado, também pode ser

uma resposta à diminuição na proporção de  $\text{NH}_4^+$ , reduzindo, assim, os riscos de toxidez, que costuma induzir o fechamento estomático (Torralbo et al., 2019).

As clorofilas e os carotenoides são pigmentos envolvidos na interceptação da radiação solar, desencadeando as reações fotoquímicas da fotossíntese. Em geral, a deficiência hídrica causa danos às estruturas dos cloroplastos, afetando negativamente o teor de pigmentos fotossintéticos (Sharma et al., 2020). No entanto, as respostas de cada espécie à restrição hídrica são variáveis, podendo ocorrer tanto aumento como redução no teor desses pigmentos (Frosi et al., 2017). No presente estudo, os teores de clorofila total e carotenoides foram maiores sob irrigação 30% (Tabela 7), e isso pode ter contribuído para preservar a capacidade fotossintética (Correia et al., 2014). Em eucalipto, normalmente observa-se maior teor de clorofila e carotenoides em condições de restrição hídrica (Silva et al., 2004; Mendes et al., 2013; Correia et al., 2014), como verificado no presente estudo. Tal fato pode ter relação com uma menor expansão foliar sob deficiência hídrica (Mendes et al., 2013; Correia et al., 2014).

Estudos demonstram que a proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  exerce influência sobre o teor de clorofila, independentemente de variações no regime hídrico (Qin et al., 2017; Cao et al., 2018; Wang et al., 2018). Alguns autores consideram que os efeitos sobre o teor de clorofila variam em função da espécie e da sua tolerância ao aumento na concentração de  $\text{NH}_4^+$ . Assim, sob baixas proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , o teor de clorofila pode não ser afetado significativamente (Liu et al., 2019), ou mesmo sofrer uma redução (Helali et al., 2010; Wang et al., 2010; Pissolato et al., 2019). Neste estudo, considera-se que houve uma tendência de aumento no teor de clorofila total, independentemente do regime hídrico, em resposta ao aumento na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  até 0,50 (Figura 5). Esse efeito pode contribuir para aumentar a captação de energia luminosa, que favorece a formação de ATP e NADPH, atenuando, assim, os impactos da restrição hídrica sobre a fotossíntese. Por outro lado, como o teor de carotenoides não foi alterado pelas proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  (Tabela 4), pode-se deduzir que variações nas fontes de N mostraram-se ineficientes para aumentar a proteção ao aparato fotossintético contra o estresse oxidativo, ocasionado por acúmulo de espécies reativas de oxigênio, que costuma ocorrer em plantas sob condição de deficiência hídrica (Havaux, 2013; Sun et al., 2018).

A deficiência hídrica costuma dificultar a absorção de carbono pelas plantas, afetando negativamente a síntese de carboidratos e a manutenção do crescimento (Hartmann et al., 2020). Neste estudo, os decréscimos verificados nos teores de açúcares



reduzidos (exceto na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  0,0:1,0) e amido nas plantas sob irrigação 30% (Figura 6) corroboram o entendimento a respeito dos efeitos negativos da restrição hídrica sobre o crescimento das plantas (Tabela 7). Sob irrigação 30%, o decréscimo no teor de açúcares redutores em função do aumento na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  foi concomitante ao aumento na taxa fotossintética. Esses resultados sugerem rápida conversão de açúcares redutores a sacarose e maior partição de assimilados para outros drenos, tendo em vista que o aumento na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  também favoreceu o crescimento em altura e diâmetro de caule, bem como o acúmulo de massa seca em outras partes da planta, em detrimento do aumento no número de folhas (Tabelas 5 e 6). O aumento na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  não causou aumento no teor de amido (Figura 6B), sugerindo que o decréscimo no teor de açúcares redutores não foi relacionado ao acúmulo de carboidratos de reserva.

Sob irrigação de 30%, o aumento da proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  até a proporção estimada de 0,61: 0,39 causou um ligeiro declínio no teor de amido (Figura 6B). À medida que a relação  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  aumenta, também aumenta a demanda por redução de  $\text{NO}_3^-$ , que é energeticamente dispendioso (Nunes-Nesi et al., 2010), cujo processo é evitado quando o  $\text{NH}_4^+$  é a principal fonte de N (MacNeill et al., 2017). Nas folhas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) e soja (*Glycine max* L.) com aumento da oferta de  $\text{NO}_3^-$ , o teor de amido diminui, pois o carbono é realocado em metabólitos do ciclo de Krebs, ácidos orgânicos e aminoácidos (Veau et al. 1992; Scheible et al. 1997). O aumento da razão  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  em *Arabidopsis* resulta em um declínio no conteúdo de amido e um aumento nos metabólitos associados aos ácidos tricarbóxicos (Hachiya et al. 2012; Sato e Yanagisawa 2014).

O acúmulo de prolina em folhas é uma resposta comumente observada em plantas submetidas tanto à restrição hídrica (Hossain e Fujita, 2010) como à adubação exclusiva com amônio (Fernández-Crespo, et al., 2012; Kováčik e Klejdus, 2014; Ravazzolo et al., 2020). A prolina pode atuar como um osmólito compatível, protegendo o aparelho fotossintético por meio da estabilização de proteínas e enzimas envolvidas no processo de eliminação de espécies reativas de oxigênio (Szabados e Saviouré, 2010). Neste estudo, nas plantas sob irrigação 30%, o teor de prolina foi maior sob adubação com apenas uma fonte de N (Figura 7). Esse aumento no teor de prolina pode estar relacionado ao acúmulo de  $\text{NO}_3^-$  ou de  $\text{NH}_4^+$  nas raízes quando a adubação contém somente uma fonte de N. Em plantas mutantes de *Arabidopsis thaliana* (*nrt1.5*) sob estresse hídrico, o acúmulo de nitrato nas raízes foi relacionado a um maior teor de

prolina (Chen et al., 2012). Já sob adubação somente com amônio, o aumento no teor de prolina pode refletir uma resposta da planta à toxicidade por excesso dessa fonte de N (Torralbo et al., 2019).

Nas plantas sob restrição hídrica, o aumento na atividade da redutase de nitrato concomitante ao aumento na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  até 0,46:0,54 indica o efeito positivo do aumento na concentração de substrato sobre a cinética enzimática (Sauro, 2011). O declínio na atividade da redutase de nitrato, em resposta a proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  mais elevadas, corrobora os resultados obtidos por outros autores (Wu et al., 2015; Wang et al., 2018; Zhang et al., 2019), e pode ser atribuído ao efeito inibidor de altas concentrações de  $\text{NO}_3^-$  sobre a atividade dessa enzima (Figura 8). Os resultados deste estudo mostram que, sob restrição hídrica, a atividade da redutase de nitrato é favorecida por proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  intermediárias. Nessas condições, a otimização da atividade da redutase de nitrato também deve ser considerada como necessária, devido ao protagonismo dessa enzima no metabolismo de síntese de óxido nítrico (NO) (Pissolato et al., 2020), o qual exerce papel mitigador do estresse hídrico, conforme observado em outras espécies (Cai et al., 2015; Silveira et al., 2017; Pissolato et al., 2020).

Apesar das evidências relatadas em outros estudos sobre a deficiência hídrica como fator de inibição da atividade da redutase de nitrato (Fresneau et al., 2007; Zahoor et al., 2017; Huang et al., 2018), neste estudo, a atividade dessa enzima nas proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  de 0,25:0,75 e 0,50:0,50 foi maior nas plantas sob irrigação 30% (Figura 9). De acordo com Yaneva et al. (2000) e Sharma e Dubey (2005), sob condições de estresse hídrico, o aumento na atividade da redutase de nitrato pode ser uma resposta compensatória à redução na quantidade total da enzima (formas ativa e inativa).

Em relação às características morfofisiológicas relacionadas ao crescimento, os resultados mostram que variações na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  nas plantas sob restrição hídrica não foram eficazes para evitar uma queda significativa em altura de plantas, diâmetro de colo, área foliar e massa seca de folhas, caule e raízes (Tabela 7). Os efeitos negativos da restrição hídrica sobre a massa seca foram mais intensos em folhas e caule, que sofreram reduções de 28,96 e 32,30%, respectivamente, comparando-se com plantas sob irrigação 90%. A massa seca de raiz sofreu redução menos acentuada (18,83%), sugerindo maior partição de massa seca para esse órgão, que favorece a absorção de água, permitindo maior tolerância à restrição hídrica. No entanto, as razões altura /

diâmetro do colo e massa seca de parte aérea / raiz, por sua vez, não foram influenciadas pelas variações no regime hídrico, nem pelas proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  (Tabela 5).

Por outro lado, de uma forma geral, proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  iguais ou superiores a 0,50:0,50 favoreceram o desempenho das características morfofisiológicas, independentemente do regime hídrico, contribuindo, assim, para mitigar os efeitos negativos da deficiência hídrica nas plantas sob irrigação 30% (Tabela 6). Apesar dos efeitos positivos sobre potencial hídrico, condutância estomática e fotossíntese, proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  maiores que 0,50:0,50 não se traduziram em aumentos significativos em altura de plantas, diâmetro de caule, área foliar e massa seca, quando comparados à proporção 0,50:0,50.

O efeito positivo da variação nas fontes de N sobre as características morfofisiológicas nas plantas sob restrição hídrica pode ser atribuído, em parte, à estreita relação entre a concentração de  $\text{NO}_3^-$ , a atividade da redutase de nitrato e à fotossíntese líquida. A assimilação de nitrato é essencial para a síntese de compostos orgânicos. Durante a fotossíntese, a assimilação de  $\text{CO}_2$  e a assimilação de nitrato devem ser combinadas entre si. A assimilação de nitrato pode progredir somente quando a assimilação de  $\text{CO}_2$  fornece os esqueletos de carbono para a síntese de aminoácidos (Heldt e Piechulla, 2011). Além disso, a assimilação do nitrato deve ser regulada de tal forma que a produção de aminoácidos não exceda a sua demanda. Por esses motivos, a redutase de nitrato, que exerce um papel chave no metabolismo de assimilação de nitrato, tem a sua atividade considerada como um importante indicador do desempenho metabólico da planta, especialmente no que se refere aos metabolismos de carbono e nitrogênio (Heldt e Piechulla, 2011).

Por outro lado, convém destacar que o aumento na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  também possibilitou uma atenuação dos efeitos tóxicos de  $\text{NH}_4^+$  nas folhas, como os que foram registrados nas proporções 0,0:1,0 e 0,25:0,75 (Figura 9). Os efeitos tóxicos observados neste estudo corroboram alguns relatos sobre sintomas de toxidez por excesso de  $\text{NH}_4^+$  em outras espécies, os quais geralmente acarretam redução no crescimento (Guo et al., 2007; Helali et al., 2010; Borgognone et al., 2013; Wang et al., 2018). Concentrações elevadas de  $\text{NH}_4^+$  ocasionam aumento na demanda por esqueletos de carbono para as raízes, uma vez que apenas uma pequena quantidade de  $\text{NH}_4^+$  é translocada para a parte aérea, reduzindo, assim, a disponibilidade de carbono para o crescimento e a manutenção de atividades celulares (Britto et al., 2013; Wang et al., 2016). As células podem também aumentar o efluxo de  $\text{NH}_4^+$ , o que pode resultar em

um ciclo fútil e energeticamente dispendioso (Britto et al., 2001). Além disso, em níveis tóxicos, o excesso de  $\text{NH}_4^+$  pode acarretar deficiência de outros cátions (Roosta e Schjoerring, 2007; Helali et al., 2010), interrupções na homeostase hormonal (Walch-Liu et al., 2000) e na fotossíntese (Pissolato et al., 2019), estresse oxidativo (Wang et al., 2010), acidificação de organelas celulares e desacoplamento da fotofosforilação (Gerendás et al., 1997; Bittsánszky et al., 2015).

## 6 CONCLUSÕES

A restrição hídrica influencia negativamente o crescimento de plantas jovens de *Eucalyptus urophylla*, reduzindo significativamente a altura de plantas, diâmetro de caule, área foliar e massa seca de folhas, caule e raízes. Essa redução no crescimento é atribuída, principalmente, a uma combinação de efeitos fisiológicos e bioquímicos negativos, como diminuição no potencial hídrico, na condutância estomática, na fotossíntese líquida e nos teores de açúcares redutores e amido.

A adubação nitrogenada mista com diferentes proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  demonstra ser ineficaz para evitar a redução do crescimento nas plantas sob estresse hídrico. Por outro lado, proporções  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ , iguais ou superiores 0,50:0,50, favorecem o desempenho de características morfofisiológicas relacionadas ao crescimento, independentemente do regime hídrico. Esse dado torna-se particularmente relevante para as plantas sob irrigação 30%, já que a adubação nitrogenada mista, com proporção de  $\text{NO}_3^-$  maior ou igual à de  $\text{NH}_4^+$ , apesar de não evitar os danos às características morfofisiológicas, pode atenuar os efeitos negativos da restrição hídrica sobre o crescimento. O aumento na proporção  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  também atenua os efeitos da restrição hídrica sobre o potencial hídrico foliar, condutância estomática e fotossíntese. O desempenho da atividade da redutase de nitrato é melhor sob adubação mista com  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  do que sob adubação apenas com  $\text{NO}_3^-$  ou  $\text{NH}_4^+$ .

## REFERÊNCIAS

- Abasi, H.; Babalar, M.; Lessani, H.; Naderi, R. Effects of nitrogen form of nutrient solution on uptake and concentration macro element and morphological trait in hydroponic tulip. **Journal of Plant Nutrition**, v. 39, n. 12, p. 1745-1751, 2016. <https://doi.org/10.1080/01904167.2016.1201110>
- Ahanger, M.A.; MoradTalab, N.; Fathi Abd-Allah, E.; Ahmad, P.; Hajiboland, R. Plant growth under drought stress: significance of mineral nutrients. In: Ahmad, P. **Water stress and crop plants: a sustainable approach**. 1ª ed. New Jersey, John Wiley & Sons, 2016. p. 638-668.
- Altangerel, N.; Ariunbold, G.O.; Gorman, C.; Alkahtani, M.H.; Borrego, E.J.; Bohlmeier, D.; Hemmer, P.; Kolomiets, M.V.; Yuan, J.S.; Scully, M.O. *In vivo* diagnostics of early abiotic plant stress response via Raman spectroscopy. **Proceedings of the National Academy of Sciences, USA**, v. 114, n. 13, p. 3393-3396, 2017. <https://doi.org/10.1073/pnas.1701328114>
- Alves, W.W.D.A.; Oliveira, F.A.; Azevedo, C.A.V.; Albuquerque, J.H. Métodos de determinação e níveis de água disponível no solo: efeito sobre a cultura do algodoeiro herbáceo. **Revista Caatinga**, v. 23, n. 4, p. 91-96, 2010.
- Andrés, Z.; Pérez-Hormaeche, J.; Leidi, E.O.; Schlücking, K.; Steinhorst, L.; McLachlan, D.H.; Schumacher, K.; Hetherington, A.M.; Kudla, J.; Cubero, B.; Pardo, J.M. Control of vacuolar dynamics and regulation of stomatal aperture by tonoplast potassium uptake. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 111, n. 17, p. 1806-1814, 2014. <https://doi.org/10.1073/pnas.1320421111>
- Anjum, S.A.; Xie, X.Y.; Wang, L.C.; Saleem, M.F.; Man, C.; Lei, W. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. **African Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 9, p. 2026-2032, 2011. <https://doi.org/10.5897/AJAR10.027>
- Ashraf, M.; Akram, N.A.; Al-Qurainy, F.; Foolad, M.R. Drought tolerance: roles of organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients. In: Lorenz, A.J.; Chao, S.; Asoro, F.G.; Heffner, E.L.; Hayashi, T.; Iwata, H.; Smith, K.P.; Sorrells, M.E.; Jannink, J.L. **Advances in Agronomy**. London, Academic Press, 2011. p. 249-296. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387689-8.00002-3>
- Bates, L.S.; Waldren, R.P.; Teare, I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Berenguer, H. D.; Alves, A.; Amaral, J.; Leal, L.; Monteiro, P.; Jesus, C. de; Pinto, G. Differential physiological performance of two *Eucalyptus* species and one hybrid under different imposed water availability scenarios. **Trees**, v. 32, n. 2, p. 415-427, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00468-017-1639-y>
- Bernard, S.M.; Habash, D.Z. The importance of cytosolic glutamine synthetase in nitrogen assimilation and recycling. **New Phytologist**, v. 182, n. 3, p. 608-620, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02823.x>

- Bhattacharjee, S.; Saha, A.K. Plant water-stress response mechanisms. In: Gaur, R.K.; Sharma, P. **Approaches to plant stress and their management**. New Delhi, Springer, 2014. p. 149-172. [https://doi.org/10.1007/978-81-322-1620-9\\_8](https://doi.org/10.1007/978-81-322-1620-9_8)
- Bittsánszky, A.; Pilinszky, K.; Gyulai, G.; Komives, T. Overcoming ammonium toxicity. **Plant Science**, v. 231, p. 1840-190, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.12.005>
- Borgognone, D.; Colla, G.; Roupshael, Y.; Cardarelli, M.; Rea, E.; Schwarz, D. Effect of nitrogen form and nutrient solution pH on growth and mineral. **Scientia Horticulturae**, v. 149, p. 61-69, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.02.012>
- Boschiero, B.N.; Mariano, E.; Azevedo, R.A.; Trivelin, P.C.O. Influence of nitrate-ammonium ratio on the growth, nutrition, and metabolism of sugarcane. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 139, p. 246-255, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.03.024>
- Bown, H.E.; Watt, M.S.; Clinton, P.W.; Mason, E.G. Influence of ammonium and nitrate supply on growth, dry matter partitioning, N uptake and photosynthetic capacity of *Pinus radiata* seedlings. **Trees**, v. 24, p.1097-1107, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00468-010-0482-1>
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa nº 20**, de 21 de jul. de 1999. Oficializa os métodos analíticos físicoquímicos, para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura. Diário oficial da União. Brasília, DF, 27 jul. 1999.
- Britto, D.T.; Kronzucker, H.J. Ecological significance and complexity of N-source preference in plants. **Annals of Botany**, v. 112, n. 6, p. 957-963, 2013. <https://doi.org/10.1093/aob/mct157>
- Britto, D.T.; Kronzucker, H.J.  $\text{NH}_4^+$  toxicity in higher plants: A critical review. **Journal of Plant Physiology**, v. 159, p. 567-584, 2002. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-0774>
- Britto, D.T.; Siddiqi, M.Y.; Glass, A.D.M.; Kronzucker, H.J. Futile transmembrane  $\text{NH}_4^+$  cycling: a cellular hypothesis to explain ammonium toxicity in plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 98, p. 4255-4258, 2001. <https://doi.org/10.1073/pnas.061034698>
- Cai, W.; Liu, W.; Wang, W.S.; Fu, Z.W.; Han, T.T.; Lu, Y.T. Overexpression of rat neurons nitric oxide synthase in rice enhances drought and salt tolerance. **PLoS One**, v. 10, n. 6, e0131599, 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131599>
- Campos, C.N.S.; Silva Júnior, G.B.; Prado, R.M.; David, C.H.O.; Souza Junior, J.P.; Teodoro, P.E. Silicon mitigates ammonium toxicity in plants. **Agronomy Journal**, p. 1-13, 2020. <https://doi.org/10.1002/agj2.20069>
- Cao, X.; Zhu, C.; Zhong, C.; Hussain, S.; Zhu, L.; Wu, L.; Jin, Q. Mixed-nitrogen nutrition-mediated enhancement of drought tolerance of rice seedlings associated with photosynthesis, hormone balance and carbohydrate partitioning. **Plant Growth Regulation**, v. 84, n. 3, p. 451-465, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10725-017-0352-6>

Centro de Inteligência em Florestas – CI Florestas. Eucalipto: aspectos botânicos. Disponível em: <http://www.ciflorestas.com.br/texto.php?p=eucalipto>. Acesso em 11 de agosto de 2020.

Cha-Um, S.; Kirdmanee, C. Effects of water stress induced by sodium chloride and mannitol on proline accumulation, photosynthetic abilities and growth characters of eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.). **New Forests**, v. 40, n. 3, p. 349-360, 2010. <https://doi.org/10.1007/s11056-010-9204-1>

Chaves-Filho, J.T.; Stacciarini-Seraphin, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 2, p. 199-204, 2001. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042001000200010>

Chen, C.Z.; Lv, X.F.; Li, J.Y.; Yi, H.Y.; Gong, J.M. Arabidopsis NRT1. 5 is another essential component in the regulation of nitrate reallocation and stress tolerance. **Plant Physiology**, v. 159, n. 4, p. 1582-1590, 2012. <https://doi.org/10.1104/pp.112.199257>

Chen, X.; Zhao, P.; Ouyang, L.; Zhu, L.; Ni, G.; Schäfer, K.V.R. Whole-plant water hydraulic integrity to predict drought-induced *Eucalyptus urophylla* mortality under drought stress. **Forest Ecology and Management**, v. 468, 11817, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118179>

Correia, B.; Pinto-Marijuan, M.; Neves, L.; Brossa, R.; Dias, M.C.; Costa, A.; Castro, B.N.; Araujo, C.; Santos, C.; Chaves, M.M.; Pinto, G. Water stress and recovery in the performance of two *Eucalyptus globulus* clones: physiological and biochemical profiles. **Physiologia Plantarum**, v. 150, p. 580-592, 2014. <https://doi.org/10.1111 / ppl.12110>

Correia, M.J.; Fonseca, F.; Azedo-Silva, J.; Dias, C.; David, M.M.; Barrote, I.; Osório, M.L.; Osório, J. Effects of water deficit on the activity of nitrate reductase and content of sugars, nitrate and free amino acids in the leaves and roots of sunflower and white lupin plants growing under two nutrient supply regimes. **Physiologia Plantarum**, v. 124, p. 61-70, 2005. <https://doi.org/10.1111 / j.1399-3054.2005.00486.x>

Coskun, D.; Britto, D.T.; Li, M.; Becker, A.; Kronzucker, H.J. Rapid ammonia gas transport accounts for futile transmembrane cycling under  $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$  toxicity in plant roots. **Plant Physiology**, v. 163, p. 1859-1867, 2013. <https://doi.org/10.1104/pp.113.225961>

Costa, G.F.; Marengo, R.A. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). **Acta Amazônica**, v. 37, n. 2, p. 229-234, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0044-59672007000200008>

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

Ding, L.; Li, Y.; Wang, Y.; Gao, L.; Wang, M.; Chaumont, F.; Shen, Q.; Guo, S. Root ABA accumulation enhances rice seedling drought tolerance under ammonium supply: interaction with aquaporins. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 1206, p. 1-10, 2016. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01206>

- Dong, S.; Beckles, D.M. Dynamic changes in the starch-sugar interconversion within plant source and sink tissues promote a better abiotic stress response. **Journal of Plant Physiology**, v. 234-235, p. 80-93, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2019.01.007>
- Esteban, R.; Ariz, I.; Cruz, C.; Moran, J.F. Mechanisms of ammonium toxicity and the quest for tolerance. **Plant Science**, v. 248, p. 92-101, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.04.008>
- Farooq, M.; Wahid, A.; Kobayashi, N.; Fujita, D.; Basra, S.M.A. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, v.29, p. 185-212, 2009. <https://doi.org/10.1051/agro:2008021>
- Faustino, L.I.; Moretti, A.P.; Graciano, C. Fertilization with urea, ammonium and nitrate produce different effects on growth, hydraulic traits and drought tolerance in *Pinus taeda* seedlings. **Tree Physiology**, v. 35, n. 10, p. 1062-1074, 2015. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpv068>
- Fernandes, E.T. **Fotossíntese e crescimento inicial de clones de eucalipto sob diferentes regimes hídricos**. 2012. 113 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, BA.
- Fernandes, E.T.; Cairo, P.A.R.; Novaes, A.B. Respostas fisiológicas de clones de eucalipto cultivados em casa de vegetação sob deficiência hídrica. **Ciência Rural**, v. 45, n. 1, p. 29-34, 2015. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622008000400006>
- Fernández-Crespo E.; Camañes, G.; García-Agustín, P. Ammonium enhances resistance to salinity stress in citrus plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 169, p. 1183-1191, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.04.011>
- Ferreira, D.F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p.1039-1042, 2011. <https://doi.org/10.1590/s1413-70542011000600001>.
- Ferreira, V.M.; Magalhães, P.C.; Durães, F.O.M.; Oliveira, L.E.M.; Purcino, A.A.C. Metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho. **Ciência Rural**, v. 32, n. 1, p. 13-17, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782002000100003>
- Forde, B.G.; Lea, P.J. Glutamate in plants: metabolism, regulation, and signalling. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 9, p. 2339-2358, 2007. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm121>
- Foyer, C.H.; Parry, M.; Noctor, G. Markers and signals associated with nitrogen assimilation in higher plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, n. 382, p. 585-593, 2003. <https://doi.org/10.1093/jxb/erg053>
- Fresneau, C.; Ghashghaie, J.; Cornic, G. Drought effect on nitrate reductase and sucrose-phosphate synthase activities in wheat (*Triticum durum* L.): role of leaf internal CO<sub>2</sub>. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 11, p. 2983-2992, 2007. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm150>
- Frosi, G.; Harand, W.; Oliveira, M.T.; Pereira, S.; Cabral, S.P, Montenegro, A.A.A.; Santos, M.G. Different physiological responses under drought stress result in different



recovery abilities of two tropical woody evergreen species. **Acta Botanica Brasilica**, v. 31, n. 2, p. 153-160, 2017. <https://doi.org/10.1590/0102-33062016abb0375>

Fu, Y.-F., Zhang, Z.-W., Yang, X.-Y., Wang, C.-Q., Lan, T., Tang, X.-Y.; Chen, G.-D.; Zeng, J.; Yuan, S. Nitrate reductase is a key enzyme responsible for nitrogen-regulated auxin accumulation in Arabidopsis roots. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 532, n. 4, p. 633-639, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.08.057>

Gao, Y.X., Li, Y.; Yang, X.X.; Li, H.J.; Shen, Q.R.; Guo, S.W. Ammonium nutrition increases water absorption in rice seedlings (*Oryza sativa* L.) under water stress. **Plant and Soil**, v. 331, n. 1, p. 193-201, 2010. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0245-1>

Garnett T.P.; Shabala, S.N.; Smethurst, P.J.; Newman, I.A. Kinetics of ammonium and nitrate uptake by eucalypt roots and associated proton fluxes measured using ion selective microelectrodes. **Functional Plant Biology**, v. 30, n. 11, p. 1165-1176, 2003. <https://doi.org/10.1071/FP03087>

Garnett, T.P.; Smethurst, P.J. Ammonium and nitrate uptake by *Eucalyptus nitens*: the effect of pH and temperature. **Plant and Soil**, v. 214, n. 1/2, p. 133-140, 1999. <https://doi.org/10.1023/A:1004740204876>

Gerendás, J.; Zhu, Z.; Bendixen, R.; Ratcliffe, R.G.; Sattelmacher, B. Physiological and biochemical processes related to ammonium toxicity in higher plants. **Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde**, v. 160, n. 2, p. 239-251, 1997. <https://doi.org/10.1002/jpln.19971600218>

Gonçalves, J.L.D.M.; Alvares, C.A.; Higa, A.R.; Silva, L.D.; Alfenas, A.C.; Stahl, J.; Ferraz, S.F.D.B.; Lima, W.D.P.; Brancalion, P.H.S.; Hubner, A.; Bouillet, J.P.D.; Laclau, J.P.; Nouvellon, Y.; Epron, D. Integrating genetic and silvicultural strategies to minimize abiotic and biotic constraints in Brazilian eucalypt plantations. **Forest Ecology and Management**, v. 301, p. 6-27, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2012.12.030>.

Grespan, S.L.; Dias, L.E.; Novais, R.F. 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**, v. 22, p. 667-674, 1998. <https://doi.org/10.1590/S0100-06831998000400012>.

Grossman, A.; Takahashi, H. Macronutrient utilization by photosynthetic eukaryotes and the fabric of interactions. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 52, p. 163-210, 2001. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.52.1.163>

Guimarães, M.M.C.; Cairo, P.A.R.; Neves, O.S.C. Crescimento de *Eucalyptus urophylla* em meio hidropônico com diferentes proporções de nitrato e amônio. **Floresta e Ambiente**, v. 21, n. 1, p. 52-61, 2014. <https://doi.org/10.4322/floram.2014.011>

Guo, F.Q.; Young, J.; Crawford, N.M. The nitrate transporter AtNRT1.1 (CHL1) functions in stomatal opening and contributes to drought susceptibility in *Arabidopsis*. **Plant Cell**, v. 15, n. 1, p. 107-117, 2003. <https://doi.org/10.1105/tpc.006312>

Guo, S.; Brueck, H.; Sattelmacher, B. Effects of supplied nitrogen form on growth and water uptake of French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. **Plant and Soil**, v. 239, p. 267-275, 2002. <https://doi.org/10.1023/A:1015014417018>

Guo, S.; Zhou, Y.; Shen, Q.; Zhang, F. Effect of ammonium and nitrate nutrition on some physiological processes in higher plants - growth, photosynthesis, photorespiration, and water relations. **Plant Biology**, v. 9, n. 1, p. 21-29, 2007. <https://doi.org/10.1055/s-2006-924541>

Gupta, A.; Rico-Medina, A.; Caño-Delgado, A.I. The physiology of plant responses to drought. **Science**, v. 368, n. 6488, p. 266-269, 2020. <https://doi.org/10.1126/science.aaz7614>

Hachiya, T.; Sakakibara, H. Interactions between nitrate and ammonium in their uptake, allocation, assimilation, and signaling in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 10, p. 2501-2512, 2016. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw449>

Hachiya, T.; Watanabe, C.K.; Fujimoto, M.; Ishikawa, T.; Takahara, K.; Kawai-Yamada, M.; Uchimiya, H.; Uesono, Y.; Terashima, I.; Noguchi, K. Nitrate addition alleviates ammonium toxicity without lessening ammonium accumulation, organic acid depletion and inorganic cation depletion in *Arabidopsis thaliana* shoots. **Plant and Cell Physiology**, v. 53, n. 3, p. 577-591, 2012. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcs012>

Hartmann, H.; Bahn, M.; Carbone, M.; Richardson, A.D. Plant carbon allocation in a changing world – challenges and progress: introduction to a Virtual Issue on carbon allocation. **New Phytologist**, v. 227, p. 981-988, 2020. <https://doi.org/10.1111/nph.16757>

Havaux, M. Carotenoid oxidation products as stress signals in plants. **The Plant Journal**, v. 79, p. 597-606, 2013. <https://doi.org/10.1111/tpj.12386>

Hawkesford, W.; Horst, M.; Kichey, T.; Lambers, H.; Schjoerrin, J.; Møller, I. S.; White, P. Functions of macronutrients. In: Marschner, P. (Org.). **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. London, Academic Press, 2012, p. 135-189. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00006-6>

Hayatu, M.; Muhammad, S. Y.; Abdu, H.U. Effect of water stress on the leaf relative water content and yield of some cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp.) genotype. **International Journal of Scientific & Technology Research**, v. 3, n. 7, p. 148-152, 2014.

Helali, S.M.; 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**, v. 336, p. 65-74, 2010. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0445-8>

Heldt, H.-W.; Piechulla, B. **Plant biochemistry**. 4<sup>a</sup> ed. London, Academic Press, 2011. 656 p.

Hessini, K.; Kronzucker, H.J.; Abdelly, C.; Cruz, C. Drought stress obliterates the preference for ammonium as an N source in the C4 plant *Spartina alterniflora*. **Journal of Plant Physiology**, v. 213, p. 98-107, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2017.03.003>

- Hiscox, J.D.; Israelstam, G.F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, v. 57, n. 12, p. 1332-1334, 1979. <https://doi.org/10.1139/b79-163>
- Hoagland, D.R.; Arnon, D.I. **The water culture method for growing plans without soil**. Berkley, The college of Agriculture/University of California, 1952. p.32
- Holzschuh, M.J.; Bohnen, H.; Anghinoni, I.; Pizzolato, T.M., Carmona, F.D.C.; Carlos, F.S. Absorção de nutrientes e crescimento do arroz com suprimento combinado de amônio e nitrato. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 4, p. 1357-1366, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832011000400030>
- Hossain, M.A.; Fujita, M. Evidence for a role of exogenous glycinebetaine and proline in antioxidant defense and methylglyoxal detoxification systems in mung bean seedlings under salt stress. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 16, n. 1, p. 19-29, 2010. <https://doi.org/10.1007/s12298-010-0003-0>
- Huang, L.; Li, M.; Zhou, K.; Sun, T.; Hu, L.; Li, C.; Ma, F. Uptake and metabolism of ammonium and nitrate in response to drought stress in *Malus prunifolia*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 127, p. 185-193, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.03.031>
- Huang, L.; Lu, Y.; Gao, X.; Du, G.; Ma, X.; Liu, M.; Guo, J.; Chen, Y. Ammonium-induced oxidative stress on plant growth and antioxidative response of duckweed (*Lemna minor* L.). **Ecological Engineering**, v. 58, p. 355-362, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.06.031>
- IBÁ - Indústria Brasileira de Árvores. Relatório IBÁ. 2019. Disponível em: <https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/iba-relatorioanual2019.pdf>. Acesso em 25 de maio de 2020.
- Jesus, G. L. de; Barros, N. F. de; Silva, I. R. da; Lima, N.J.C.; Henriques, E.P.; Campos, V.L.; Fernandes, L.V.; Soares, E.M.B. Doses e fontes de nitrogênio na produtividade do eucalipto e nas frações da matéria orgânica em solo da região do cerrado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, n. 1, p. 201-214, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832012000100021>
- Joy, K.W. Ammonia, glutamine and asparagine: a carbon-nitrogen interface. **Canadian Journal of Botany**, v. 66, n. 10, p. 2103-2109, 1988. <https://doi.org/10.1139/b88-288>
- Karim, S.A.; Qadir, S.A.; Sabr, H.A. Study some of morphological and physiological traits of kurrajong *Brachychiton populneus* (Schott & Endl.) seedlings planted under water stress conditions. **Basrah Journal of Agricultural Sciences**, v. 33, n. 1, p. 213-220, 2020. <https://doi.org/10.37077/25200860.2020.33.1.16>
- Kavi Kishor, P.B.; Sangam, S.; Amrutha, R.N.; Laxmip, S.R.I.; Naidu K.R; Rao, K. R.S.S.; Rao, S.; Reddy, K.J.; Theriappan, P.; Sreenivasulu, N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, v. 88, n. 3, p. 424-438, 2005. <https://doi.org/10.2307/24110209>

Klippel, V.H.; Pezzopane, J.E.M.; Pezzopane, J.R.M.; Toledo, J.V. Impacto da deficiência hídrica no crescimento inicial de eucalipto. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, v. 22, n. 1, p. 18-29, 2013.

Kováčik, J.; Klejdus, B. Induction of phenolic metabolites and physiological changes in chamomile plants in relation to nitrogen nutrition. **Food Chemistry**, v. 142, p. 334-341, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.074>

Lawson, T.; Blatt, M.R. Stomatal size, speed, and responsiveness impact on photosynthesis and water use efficiency. **Plant Physiology**, v. 164, n. 4, p. 1556-1570, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.114.237107>

Lee, D.W.; Brammeier, S.; Smith, A.P. The selective advantages of anthocyanins in developing leaves of mango and cacao. **Biotropica**, v. 19, n. 1, p. 40-49, 1987. <https://doi.org/10.2307/2388458>

Li, G.; Li, B.; Dong, G.; Feng, X.; Kronzucker, H.J.; Shi, W. Ammonium-induced shoot ethylene production is associated with the inhibition of lateral root formation in Arabidopsis. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 5, p. 1413-1425, 2013. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert019>

Li, S.X.; Wang, Z.H.; Stewart, B.A. Responses of crop plants to ammonium and nitrate N. **Advances in Agronomy**, v. 118, p. 205-397, 2013. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405942-9.00005-0>

Lima, J.E.; Kojima, S.; Takahashi, H.; Von Wirén, N. Ammonium triggers lateral root branching in Arabidopsis in an AMMONIUM TRANSPORTER1; 3-dependent manner. **The Plant Cell**, v. 22, n. 11, p. 3621-3633, 2010. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.076216>

Liu, B.; Wu, J.; Yang, S.; Schiefelbein, J.; Gan, Y. Nitrate regulation of lateral root and root hair development in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, n. 15, p. 4405-4414, 2019. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz536>

Lopes, M.S.; Araus, J.L. Nitrogen source and water regime effects on durum wheat photosynthesis and stable carbon and nitrogen isotope composition. **Physiologia Plantarum**, v. 126, p. 435-445, 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00595.x>

Lu, Y.X.; Li, C.J.; Zhang, F.S. Transpiration, potassium uptake and flow in tobacco as affected by nitrogen forms and nutrient levels. **Annals of Botany**, v. 95, n. 6, p. 991-998, 2005. <https://doi.org/10.1093/aob/mci104>

MacNeill, G.J.; Mehrpouyan, S.; Minow, M.A.A.; Patterson, J.A.; Tetlow, I.J.; Emes, M.J. Starch as a source, starch as a sink: the bifunctional role of starch in carbon allocation. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 16, p. 4433-4453, 2017. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx291>

Marino, D.; Moran, J.F. Can ammonium stress be positive for plant performance? **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. 1103, p. 1-5, 2019. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01103>

Marschner, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3<sup>a</sup> ed. London, Academic Press, 2012. 672 p.

Maseda, P.H.; Fernández, R.J. Growth potential limits drought morphological plasticity in seedlings from six Eucalyptus provenances. **Tree Physiology**, v. 36, n. 2, p. 243-251, 2016. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpv137>

Matos, F.S.; Wolfgramm, R.; Gonçalves, F.V.; Cavatte, P.C.; Ventrella, M.C.; DaMatta, F.M. Phenotypic plasticity in response to light in the coffee tree. **Environmental and Experimental Botany**, v. 67, n. 2, p. 421-427, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.06.018>

Matsumura, A.T. **Controle da atividade da nitrato redutase em plantas de abacaxizeiro submetidas a baixas temperaturas em diferentes fases do ciclo diurno**. 2012. 78 p. Dissertação (Mestrado em Botânica). Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

Máximo, W.P.F.; Santos, P.A.A.; Mendonça, E.G.; Santos, B.R.; Paiva, L.V. Nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) and ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) ratios for propagation of eucalyptus hybrid in two different in vitro cultivation systems. **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 12, p. 1242-1248, 2015.

Mcintyre, G.I. The role of nitrate in the osmotic and nutritional control of plant development. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 24, p. 103-118, 1997. <https://doi.org/10.1071/PP96064>

Meier, M.; Liu, Y.; Lay-Pruitt, K.S.; Takahashi, H.; Von Wirén, N. Auxin-mediated root branching is determined by the form of available nitrogen. **Nature Plants**, v. 6, n. 9, p. 1136-1145, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-00756-2>

Melo, H.C.; Castro, E.M.; Soares, A.M.; Melo, L.A.; Alves, J.D. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de deficit hídrico. **Hoehnea**, v. 34, n. 2, p. 145-153, 2007. <https://doi.org/10.1590/S2236-89062007000200003>

Mendes, H.S.J. **Fenotipagem para estudos de tolerância a deficiência hídrica em eucalipto**. 2015. 67 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, SP.

Mendes, H.S.J.; Paula, N.F. de; Scarpinati, E.A.; Paula, R.C. Respostas fisiológicas de genótipos de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* à disponibilidade hídrica e adubação potássica. **Cerne**, v. 19, n. 4, p. 603-611, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0104-77602013000400010>

Meng, S.; Zhang, C.; Su, L.; Li, Y.; Zhao, Z. Nitrogen uptake and metabolism of *Populus simonii* in response to PEG-induced drought stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 123, p. 78-87, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.11.005>

Miller, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426, 1959. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>

Mitchell, P.J.; Grady, A.P.O.; Tissue, D.T.; Worledge, D.; Pinkard, E.A. Co-ordination of growth, gas exchange and hydraulics define the carbon safety margin in tree species

with contrasting drought strategies. **Tree Physiology**, v. 34, n. 5, p. 443-458, 2014. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpu014>

Morales, F.; Ancín, M.; Fakhret, D.; González-Torrallba, J.; Gámez, A.L.; Seminario, A.; Soba, D.; Mariem, S.B.; Garriga, M.; Aranjuelo, I. Photosynthetic metabolism under stressful growth conditions as a bases for crop breeding and yield improvement. **Plants**, v. 9, n. 88, p. 1-23, 2020. <https://doi.org/10.3390/plants9010088>

Moroni, M.T.; Worledge, D.; Beadle, C.L. Root distribution of *Eucalyptus nitens* and *E. globulus* in irrigated and droughted soil. **Forest Ecology and Management**, v. 177, n. 1-3, p. 399-407, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(02\)00410-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(02)00410-3)

Müller, C.; Hodecker, B.E.R.; Barros, N.F.; Merchant, A. A physiological approach for pre-selection of *Eucalyptus* clones resistant to drought. **iForest**, v. 13, n. 1, p. 16-23, 2020. <https://doi.org/10.3832/ifor3185-012>

Müller, C.; Hodecker, B.E.R.; Merchant, A.; Barros, N.F. Nutritional efficiency of eucalyptus clones under water stress. **Revista Brasileira de Ciência Do Solo**, 41:e0160528, 2017. <https://doi.org/10.1590/18069657rbc20160528>

Nóia Júnior, R.S.; Amaral, G.C.; Pezzopane, J.E.M.; Fonseca, M.D.S.; Câmara da Silva, A.P.; Xavier, T.M.T. Ecophysiological acclimatization to cyclic water stress in *Eucalyptus*. **Journal of Forestry Research**, v. 31, n. 3, p. 797-806, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11676-019-00926-9>

Nunes-Nesi, A.; Fernie, A.R.; Stitt, M. Metabolic and signaling aspects underpinning the regulation of plant carbon nitrogen interactions. **Molecular Plant**, v. 3, n. 6, p. 973-996, 2010. <https://doi.org/10.1093/mp/ssq049>

Oliveira, F.A.; Oliveira, F.R.A.; Campos, M.S.; Oliveira, M.K.T.; Medeiros, J.F.; Silva, O.M.P. Interação entre salinidade e fontes de nitrogênio no desenvolvimento inicial da cultura do girassol. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 4, p. 479-484, 2010. <https://doi.org/10.5039/agraria.v5i4a806>

Oliveira, L.J. de; Mariano-da-Silva, S.; Costa Netto, A.P.; Silva, S.M. da; Mariano-da-Silva, F.M.S. Características agronômicas e atividade da redutase do nitrato em plantas de *Campomanesia* sp. sob estresse hídrico. **Agrarian**, v. 4, n. 11, p. 43-53, 2011.

Padilha, N.S.; Silva, C.J. da; Pereira, S.B.; Silva, J.A.N.; Heid, D.M.; Bottega, S.P.; Scalon, S.P.Q. Crescimento inicial do pinhão-manso submetido a diferentes regimes hídricos em latossolo vermelho distrófico. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 2, p. 513-521, 2016. <https://doi.org/10.5902/1980509822752>

Park, J.H.; Lee, B.W. Photosynthetic characteristics of rice cultivars with depending on leaf senescence during grain filling. **Journal of Crop Science**, v. 48, p. 216-223, 2003.

Pill, W.G.; Lambeth, V.N. Effects of  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-$  nutrition with and without pH adjustment on tomato growth, ion composition, and water relation. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 102, n. 1, p. 78-81, 1977.

Pissolato, M.D.; Silveira, N.M.; Machado, E.C.; Zambrosi, F.C.B.; Sodek, L.; Ribeiro, R. V. Photosynthesis and biomass accumulation in young sugarcane plants grown under increasing ammonium supply in nutrient solution. **Theoretical and Experimental**

**Plant Physiology**, v. 31, p. 401-411, 2019. <https://doi.org/10.1007/s40626-019-00154-w>

Pissolato, M.D.; Silveira, N.M.; Prata, P.J.C.; Machado, E.C.; Seabra, A.B.; Pelegrino, M.T.; Sodek, L.; Ribeiro, R.V. Enhanced nitric oxide synthesis through nitrate supply improves drought tolerance of sugarcane plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. 970, p. 1-14, 2020. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00970>

Qin, S.; Sun, X.; Hu, C.; Tan, Q.; Zhao, X.; Xin, J.; Wen, X. Effect of  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  ratios on growth, root morphology and leaf metabolism of oilseed rape (*Brassica napus* L.) seedlings. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 39, n. 9, p. 1-8, 2017. <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2491-9>

Quebedeaux, B.J.; Qzbun, J.L. Effects of ammonium nutrition on water stress, water uptake, and root pressure in *Lycopersicon esculentum* Mill. **Plant Physiology**, v. 52, p. 677-679, 1973.

Rad, M.H.; Assaré, M.H.; Banakar, M.H.; Soltani, M. Effects of different soil moisture regimes on leaf area index, specific leaf area and water use efficiency in Eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh) under dry climatic conditions. **Asian Journal of Plant Sciences**, v. 10, n. 5, p. 294-300, 2011. <https://doi.org/10.3923/ajps.2011.294.300>

Ramel, F.; Birtic, S.; Ginies, C.; Soubigou-Taconnat, L.; Triantaphylidès, C.; Havaux, M. Carotenoid oxidation products are stress signals that mediate gene responses to singlet oxygen in plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences, USA**, v. 109, n. 14, p. 5535-5540, 2012. <https://doi.org/10.1073/pnas.1115982109>

Ravazzolo, L.; Trevisan, S.; Forestan, C.; Varotto, S.; Sut, S.; Dall'acqua, S.; Malagoli, M.; Quaggiotti, S. Nitrate and Ammonium affected the overall maize response to nitrogen availability by triggering specific and common transcriptional signatures in roots. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 2, p. 686, 2020. <https://doi.org/10.3390/ijms21020686>

Reis, C.A.F.; Santos, P.E.T.; Paludzyszyn Filho, E. Avaliação de clones de eucalipto em Ponta Porã, Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 34, n. 80, p. 263-269, 2014. <https://doi.org/10.4336/2014.pfb.34.80.569>

Reis, G.G.; Reis, M.G.F.; Fontan, I.C.I.; Monte, M.A.; Gomes, N.A.; Oliveira, C.H.R. Crescimento de raízes e da parte aérea de clones de híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* e de *Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus* spp submetidos a dois regimes de irrigação no campo. **Revista Árvore**, v. 30, n. 6, p. 921-931, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622006000600007>

Roosta, H.R.; Schjoerring, J.K. Effects of ammonium toxicity on nitrogen metabolism and elemental profile of cucumber plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 30, n. 11, p. 1933-1951, 2007. <https://doi.org/10.1080/01904160701629211>

Rothstein, D.E.; Cregg, B.M. Effects of nitrogen form on nutrient uptake and physiology of Fraser fir (*Abies fraseri*). **Forest Ecology and Management**, v. 219, n. 1, p. 69-80, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2005.08.043>

Salehi-Lisar, S.Y.; Bakhshayeshan-Agdam, H. Drought stress in plants: causes, consequences, and tolerance. In: Hossain, M.A.; Wani, S.H.; Bhattacharjee, S.;

- Burritt, D.J.; Tran, L.S.P. (Eds). **Drought stress tolerance in plants**. Switzerland, Springer, 2016. p. 1-16.
- Sampaio, T.F.; Dalcin, T.E.; Bogiani, J.C.; Mori, E.S.; Guerrini, I.A. Selection of eucalyptus clones and adjustment of potassium doses for extended drought in Bahia savanna. **Revista Árvore**, v. 40, n. 6, p. 1031-1039, 2016. <https://doi.org/10.1590/0100-67622016000600008>
- Sant'Anna, A.G.; Leonel, M.S. Desenvolvimento regional: a opção pelo eucalipto no extremo sul da Bahia. **Revista Mosaicum**, v. 1, n. 2, p. 9-24, 2005.
- Santos, F.H.O.; Alvim, M.N. Avaliação do crescimento *Ocimum basilicum* L. sob estresse hídrico. **NBC-Periódico Científico do Núcleo de Biociências**, v. 6, n. 12, p. 61-68, 2016.
- Santos, K.F.; Schumacher, M.V. Ecofisiologia e crescimento de *Eucalyptus* em condição de déficit hídrico. **Ecologia e Nutrição Florestal**, v. 4, n. 2, p. 33-44, 2016. <https://doi.org/10.5902/2316980X21038>
- Sato, S.; Yanagisawa, S. Characterization of metabolic states of *Arabidopsis thaliana* under diverse carbon and nitrogen nutrient conditions via targeted metabolomic analysis. **Plant and Cell Physiology**, v. 55, n. 2, p. 306-319, 2014. <https://doi.org/10.1093/pcp/pct192>
- Sauro, H.M. **Enzyme kinetics for systems biology**. 1ª ed. Lexington, Future Skill Software and Ambrosius Publishing, 2011. 322 p.
- Scheible, W.R.; Gonzalez-Fontes, A.; Lauerer, M.; Muller-Rober, B.; Caboche, M.; Stitt, M. Nitrate acts as a signal to induce organic acid metabolism and repress starch metabolism in tobacco. **The Plant Cell**, v. 9, n. 5, p. 783-798, 1997. <https://doi.org/10.1105/tpc.9.5.783>
- Scholander, P.F.; Bradsterret, E.D.; Hemmingsen, E.A.; Hammel, H.T. Sap pressure in vascular plants. **Science**, v. 148, n. 3668, p. 339-346, 1965.
- Sharma, A.; Kumar, V.; Shahzad, B.; Ramakrishnan, M.; Sidhu, G.P.S.; Bali, A.S.; Handa, N.; Kapoor, D.; Yadav, P.; Khanna, K.; Bakshi, B.; Rehman, A.; Kohli, S.K.; Khan, E.A.; Parihar, R.D.; Yuan, H.; Thukral, A.K.; Bhardwaj, R.; Zheng, B. Photosynthetic response of plants under different abiotic stresses: a review. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 39, n. 2, p. 509-531, 2020. <https://doi.org/10.1007/s00344-019-10018-x>
- Sharma, P.; Dubey, R.S. Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant. **Journal of Plant Physiology**, v. 162, n. 8, p. 854-864, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.09.011>
- Shedley, E.; Dell, B.; Grove, T. Diagnosis of nitrogen deficiency and toxicity of *Eucalyptus globulus* seedlings by foliar analysis. **Plant and Soil**, v. 177, p. 183-189, 1995. <https://doi.org/10.1007/BF00010124>
- Shvaleva, A. L.; Silva, F C.E.; Breia, E.; Jouve, J.; Hausman, J.F.; Almeida, M.H., Maroco, J.P.; Rodrigues, M.L.; Pereira, J.S.; Chaves, M.M. Metabolic responses to water deficit in two *Eucalyptus globulus* clones with contrasting drought



- sensitivity. **Tree Physiology**, v. 26, n. 2, 239-248, 2006.  
<https://doi.org/10.1093/treephys/26.2.239>
- Silva, G.P. da; Mello Prado, R. de; Ferreira, R.P.S. Absorption of nutrients, growth and nutritional disorders resulting from ammonium toxicity in rice and spinach plants. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 28, n. 12, p. 882-889, 2016.  
<https://doi.org/10.9755/ejfa.2016-09-1294>
- Silva, I.M. de A.; Souza, M.W.R. de; Rodrigues, A.C.P.; Correia, L.P. de .S.; Veloso, R.V. dos S.; Santos, J.B. dos; Titon, M.; Gonçalves, J.F.; Laia, M.L. Determination of parameters for selection of *Eucalyptus* clones tolerant to drought. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 40, p. 3940-3949, 2016.  
<https://doi.org/10.5897/AJAR2016.11325>
- Silva, J.R.J.; Cairo, P.A.R.; Bomfim, R.A.A.; Barbosa, M.P.; Souza, M.O.; Leite, T.C. Morphological and physiological changes during leaf ontogeny in genotypes of *Eucalyptus* young plants. **Trees**, v. 34, n. 3, p. 759-769, 2020.  
<https://doi.org/10.1007/s00468-020-01955-2>
- Silva, M.R.; Klar, A.E.; Passos, J.R. Efeitos do manejo hídrico e da aplicação de potássio nas características morfofisiológicas de mudas de *Eucalyptus grandis* (Hill ex. Maiden). **Irriga**, v. 9, n. 1, p. 31-40, 2004.  
<https://doi.org/10.15809/irriga.2004v9n1p31-40>
- Silva, P.C.C.; Couto, J.L.; Santos, A.R. Efeito dos íons amônio e nitrato no desenvolvimento do girassol em solução nutritiva. **Revista da FZVA**, v. 17, n. 1, p. 104-114, 2010.
- Silva, P.H.M.; Campos, O.C.; Paula, R.C. de; Lee, D.J. Seedling growth and physiological responses of sixteen eucalypt taxa under controlled water regime. **Forests**, v. 7, n. 110, p. 1-13, 2016. <https://doi.org/10.3390/f7060110>
- Silveira, N.M.; Hancock, J.T.; Frungillo, L.; Siasou, E.; Marcos, F. C.; Salgado, I.; Machado, E.C.; Ribeiro, R.V. Evidence towards the involvement of nitric oxide in drought tolerance of sugarcane. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 115, p. 354-359, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.04.011>
- Smit, M.A.; Singels, S. The response of sugarcane canopy development to water stress. **Field Crops Research**, v. 98, n. 2-3, p. 91-97, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2005.12.009>
- Souza, L.C.; Siqueira, J.A.M.; Silva, J. L.S.; Silva, J.N.; Coelho, C.C.R.; Neves, M.G.; Oliveira Neto, C.F.; Lobato, A.K.S. Compostos nitrogenados, proteínas e aminoácidos em milho sob diferentes níveis de sílica e deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 13, n. 2, p. 117-128, 2014. <https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v13n2p117-128>
- Stefanuto, V.A. **Efeito do cálcio na homeostase de brotações de um clone de *Eucalyptus grandis* Hill (ex Maiden) sob condições de deficiência hídrica induzida *in vitro***. 2002. 65 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

- Sun, T.; Yuan, H.; Cao, H.; Yazdani, M.; Tadmor, Y. Carotenoid metabolism in plants: The role of plastids. **Molecular Plant**, v. 11, n. 1, p. 58-74, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.09.010>
- Susiluoto, S.; Berninger, F. Interactions between morphological and physiological drought responses in *Eucalyptus microtheca*. **Silva Fennica**, v. 41, n. 2, p. 221-233, 2007.
- Szabados, L.L.; Saviouré, A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 2, p. 89-97, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.009>
- Tabatabaei, S.J.; Fatemi, L.S.; Fallahi, E. Effect of ammonium: nitrate ratio on yield, calcium concentration, and photosynthesis rate in strawberry. **Journal of Plant Nutrition**, v. 29, n. 7, p. 1273-1285, 2006. <https://doi.org/10.1080/01904160600767575>
- Taiz, L.; Zeiger, E.; Moller, I.M.; Murphy, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6<sup>a</sup> ed. Porto Alegre, Artmed, 2017. 858 p.
- Tariq, A.; Pan, K.; Olatunji, O.A.; Graciano, C.; Li, Z.; Li, N.; Song, D.; Sun, F.; Wu, X.; Dakhil, M.A.; Sun, X.; Zhang, L. Impact of phosphorus application on drought resistant responses of *Eucalyptus grandis* seedlings. **Physiologia Plantarum**, v. 166, n. 4, p. 894-908, 2019. <https://doi.org/10.1111/ppl.12868>
- Torralbo, F.; González-Moro, M.B.; Baroja-Fernández, E., Aranjuelo, I.; González-Murua, C. Differential regulation of stomatal conductance as a strategy to cope with ammonium fertilizer under ambient versus elevated CO<sub>2</sub>. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. 597, p. 1-12, 2019. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00597>
- Utkhao, W.; Yingjajaval, S. Changes in leaf gas exchange and biomass of *Eucalyptus camaldulensis* in response to increasing drought stress induced by polyethylene glycol. **Trees**, v. 29, n. 5, p. 1581-1592, 2015. <https://doi.org/10.1007/s00468-015-1240-1>
- Vandoorne, B.; Mathieu A.S.; Van de Ende, W.; Vergauwen, R.; Perilleux, C.; Javaux, M.; Lutts, S. Water stress drastically reduces root growth and inulin yield in *Cichorium intybus* (var. sativum) independently of photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 12, p. 4359-4373, 2012. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers095>
- Veau, E.J.I. de.; Robinson, J.M.; Warmbrodt, R.D.; Kremer, D.F. Photosynthate metabolism in the source leaves of N<sub>2</sub>-fixing soybean plants. **Plant Physiology**, v. 99, n. 3, p. 1105-1117, 1992. <https://doi.org/10.1104/pp.99.3.1105>
- Walch-Liu, P.; Neumann, G.; Bangerth, F.; Engels, C. Rapid effects of nitrogen form on leaf morphogenesis in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 343, p. 227-237, 2000. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.343.227>
- Wang, C.; Zhang, S.H.; Wang, P.F.; Li, W.; Lu, J. Effects of ammonium on the antioxidative response in *Hydrilla verticillata* (L.f.) royle plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 2, p. 189-195, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.08.012>
- Wang, F.; Gao, J.; Tian, Z.; Liu, Y.; Abid, M.; Jiang, D.; Cao, W.; Dai, T. Adaptation to rhizosphere acidification is a necessary prerequisite for wheat (*Triticum aestivum* L.) seedling resistance to ammonium stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 108, p. 447-455, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.08.011>

- Wang, P.; Wang, Z.; Pan, Q.; Sun, X.; Chen, H.; Chen, F.; Yuan L.; Mi, G. Increased biomass accumulation in maize grown in mixed nitrogen supply is mediated by auxin synthesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 70, n. 6, p. 1859-1873, 2019. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz047>
- Wang, P.; Wang, Z.; Sun, X.; Mu, X.; Chen, H.; Chen, F.; Lixing, Y.; Mi, G. Interaction effect of nitrogen form and planting density on plant growth and nutrient uptake in maize seedlings. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 17, p. 60345-60347, 2018. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(18\)61977-X](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)61977-X)
- Wang, R.; Chen, L.; Chen, J.; Chen, Y.; Zhang, Z.; Wang, X.; Peng, Y.; Peng, S.; Li, A.; Wei, X. Different nitrate and ammonium ratios affect growth and physiological characteristics of *Camellia oleifera* Abel seedlings. **Forests**, v. 9, n. 12, p. 784, 2018. <https://doi.org/10.3390/f9120784>
- Wang, Y.-Y.; Hsu, P.-K.; Tsay, Y.-F. Uptake, allocation and signaling of nitrate. **Trends in Plant Science**, v. 17, n. 8, p. 458-467, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.006>
- Waraich, E.A.; Ahmad, R.; Ashraf, M.Y. Role of mineral nutrition in alleviation of drought stress in plants. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 6, p. 764-777, 2011.
- Warren, C.R.; Adams, M.A. Possible causes of slow growth of nitrate-supplied *Pinus pinaster*. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 32, n. 4, p. 569-580, 2002. <https://doi.org/10.1139/x01-225>
- Warren, C.R.; Aranda, I.; Cano, F.J. Responses to water stress of gas exchange and metabolites in *Eucalyptus* and *Acacia* spp. **Plant, Cell and Environment**, v. 34, n. 10, p. 1609-1629, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02357.x>
- Weatherley, P.E. Studies in the water relations of the cotton plant: the field measurements of water deficits in leaves. **New Phytologist**, v. 49, p. 81-97, 1950. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.1950.tb05146.x>
- Wong, M. Visual symptoms of plant nutrient deficiencies in nursery and landscape plants. **Soil and Crop Management**, p. 1-4, 2005.
- Woolfolk, W.T.M.; Friend, A.L. Growth response of cottonwood roots to varied  $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$  ratios in enriched patches. **Tree Physiology**, v. 23, n. 6, p. 427-432, 2003. <https://doi.org/10.1093/treephys/23.6.427>
- Wu, H.; Chen, X.; Zhang, Y.; Wu, F. Effects of different  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  ratio and water condition on physiological characteristics of rice seedlings. **Agricultural Science & Technology**, v. 18, n. 10, p. 1908-1911, 2017.
- Wu, Y.; Zhang, W.; Xu, L.; Wang, Y.; Zhu, X.; Li, C.; Liu, L. Isolation and molecular characterization of nitrite reductase (RsNiR) gene under nitrate treatments in radish. **Scientia Horticulturae**, v. 193, p. 276-285, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.07.016>
- Xu, G.; Wolf, S.; Kafkafi, U. Ammonium on potassium interaction in sweet pepper. **Journal of Plant Nutrition**, v. 25, n. 4, p. 719-734, 2002. <https://doi.org/10.1081/PLN-120002954>

Yaneva, I.A.; Baydanova, V.D.; Vunkova-Radeva, R.V. Nitrate reductase activation state in leaves of molybdenum-deficient winter wheat. **Journal of Plant Physiology**, v. 157, n. 5, p. 495-501, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(00\)80104-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(00)80104-2)

Yang, X.X.; Li Y.; Ren B.B.; Ding, L.; Gao C.M.; Shen, Q.R.; Guo, S. Drought-induced root aerenchyma formation restricts water uptake in rice seedlings supplied with nitrate. **Plant & Cell Physiology**, v. 53, n. 3, p. 495-504, 2012. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcs003>

Yi, X.; Zhang, Y.; Yao, H.; Zhang, X.; Luo, H.; Gou, L.; Zhang, W. Alternative electron in field grown cotton under water deficit during flowering and boll setting stages. **Functional Plant Biology**, v. 41, n. 7, p. 737-747, 2014. <https://doi.org/10.1071/FP13269>

Zahoor, R.; Zhao, W.; Abid, M.; Dong, H.; Zhou, Z. Potassium application regulates nitrogen metabolism and osmotic adjustment in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) functional leaf under drought stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 215, 30-38, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2017.05.001>

Zhang, J.; Lv, J.; Dawuda, M.M.; Xie, J.; Yu, J.; Li, J.; Xiaodan, Z.; Tang, C.; Wang, C.; Gan, Y. Appropriate ammonium-nitrate ratio improves nutrient accumulation and fruit quality in pepper (*Capsicum annuum* L.). **Agronomy**, v. 9, n. 11, p. 683, 2019. <https://doi.org/10.3390/agronomy9110683>

Zhang, L.; Gao, M.; Li, S.; Li, S.; Liang, Z. Growth, water status and photosynthesis in two maize (*Zea mays* L.) cultivars as affected by supplied nitrogen form and drought stress. **Pakistan Journal of Botany**, v. 43, n. 4, p. 1995-2001, 2011a.

Zhang, L.; Wang, K.; Zhang, X.; Lu, L.; Li, Y.; Gao, M.; Wang, C.; Hu, J.; Liang, Z. Role of nitrate nutrition in alleviation of the adverse effects of drought stress on maize cultivars: biomass production and antioxidative capacity. **Pakistan Journal of Botany**, v. 43, n. 6, p. 2869-2874, 2011b.