

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Contribuição dos horizontes profundos do solo para o fornecimento
de nutrientes em plantações de eucalipto**

Eduardo Vinícius da Silva

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Recursos Florestais.
Opção em: Silvicultura e Manejo Florestal

**Piracicaba
2011**

**Eduardo Vinícius da Silva
Engenheiro Florestal**

**Contribuição dos horizontes profundos do solo para o fornecimento de nutrientes
em plantações de eucalipto**

Orientador:
Prof. Dr. **JOSÉ LEONARDO DE MORAES GONÇALVES**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Recursos Florestais.
Opção em: Silvicultura e Manejo Florestal

**Piracicaba
2011**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Silva, Eduardo Vinícius da

Contribuição dos horizontes profundos do solo para o fornecimento de nutrientes em plantações de eucalipto / Eduardo Vinícius da Silva. - - Piracicaba, 2011. 78 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2011.

1. Água no solo 2. Eucalipto 3. Horizontes do solo 4. Mudanças 5. Nutrientes 6. Raízes I. Título

CDD 634.9734
S586c

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

A DEUS, por ter me dado força e coragem diante dos desafios.

OFEREÇO

Aos meus pais Ernesto e Augusta, pelos ensinamentos e exemplo de vida.

Aos meus irmãos André e Juliana, pelo apoio em todos os momentos.

À Neusa e Adriana, pelo incentivo durante os trabalhos.

A minha amada esposa Ana Paula, pelo carinho, paciência e força nos
momentos difíceis.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, em particular ao Departamento de Ciências Florestais, pela oportunidade.

Ao Prof. Dr. José Leonardo Moraes Gonçalves pelos ensinamentos, orientação, confiança e principalmente pela amizade, cultivada desde a graduação, a qual durará por toda a vida.

Aos pesquisadores Jean-Pierre Bouillet e Jean-Paul Laclau, pelos ensinamentos, orientação e também pela amizade construída.

Aos professores José Luis Stape, Philippe Hinsinger, Christophe Jourdan, Claude Plassard, Yann Nouvellon, Cassio Hamilton Abreu Junior e Paulo Cesar Ocheuze Trivelin; pelas sugestões e críticas feitas a este trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida.

Ao Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio à pesquisa e pela oportunidade da realização do doutorado sanduíche em Montpellier – França.

A todos da UMR Eco & Sols em Montpellier – França, pelo grande aprendizado.

Ao Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD - Département Persyst UPR 80), pelo auxílio à pesquisa.

Ao projeto EUCFLUX, em especial à DURTAEX S.A., pelo apoio logístico e pela área experimental.

Ao Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF), em especial ao Israel Gomes Vieira e Edison Luis da Fonseca, pelo apoio na coleta de folhas.

Ao Programa Temático de Silvicultura e Manejo (PTSM), em especial à Ana Paula Pulito e José Carlos Arthur Júnior, pelo apoio logístico e grande amizade.

Às técnicas do Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas do CENA, Henriqueta Maria Gimenes Fernandes e Cleusa Pereira Cabral, pela atenção e pelos ensinamentos durante as análises.

Ao Rildo Moreira e Moreira, João Carlos Teixeira Mendes e Eder Araújo da Silva (Floragro), pelo apoio durante o desenvolvimento do trabalho.

À Catarina Germuts secretária do Programa de Pós-graduação em Recursos Florestais, pela presteza e por sempre nos auxiliar com os prazos.

Aos amigos Maureen Voigtlaender, Julio Cesar Raposo de Almeida, Otávio Camargo Campoe, Claire Marsden, Juan Sinfiorano Delgado Rojas, Alexandre de Vicente Ferraz, Ângela Simone Freitag, Vinícius Sandri Diaz, Felipe Uassurê Nery, Ricardo Sixel, Lauro Rodrigues, Marileide Gomes e Paulo Henrique Müller da Silva, pela amizade e convivência produtiva.

O SENHOR é o meu pastor, nada me faltará.

Deitar-me faz em verdes pastos, guia-me mansamente a águas tranquilas.

Refrigera a minha alma; guia-me pelas veredas da justiça, por amor do seu nome.

Ainda que eu andasse pelo vale da sombra da morte, não temeria mal algum, porque tu estás comigo; a tua vara e o teu cajado me consolam.

Preparas uma mesa perante mim na presença dos meus inimigos, unges a minha cabeça com óleo, o meu cálice transborda.

Certamente que a bondade e a misericórdia me seguirão todos os dias da minha vida; e habitarei na casa do SENHOR por longos dias.

Amém

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	15
Referências	17
2 ESPECIALIZAÇÃO FUNCIONAL DE RAÍZES FINAS DE <i>Eucalyptus</i> : CONTRASTE ENTRE AS TAXAS DE ABSORÇÃO POTENCIAL DOS MARCADORES DE NITROGÊNIO, POTÁSSIO E CÁLCIO VARIANDO A PROFUNDIDADE DO SOLO.....	21
Resumo	21
Abstract	22
2.1 Introdução	22
2.2 Material e método.....	25
2.2.1 Área de estudo	25
2.2.2 Delineamento experimental.....	29
2.2.3 Aplicação dos marcadores	31
2.2.4 Amostragem e análises	32
2.2.5 Estimações da PAR e da PARE.....	33
2.2.6 Monitoramento da água nos solos	35
2.2.7 Análise estatística	36
2.3 Resultados	37
2.3.1 Distribuição de raízes finas	37
2.3.2 Concentração de Rb, de Sr e a percentagem de ¹⁵ N nas folhas.....	38
2.3.3 Potencial absorção relativa dos marcadores (PAR).....	40
2.3.4 Potencial absorção relativa específica dos marcadores (PARE).....	42
2.3.5 Influência do teor de água do solo sobre a PAR e PARE.....	44
2.4 Discussão.....	47
2.4.1 Dinâmica da concentração foliar e absorção dos marcadores	47
2.4.2 Especialização funcional das raízes finas de <i>Eucalyptus grandis</i>	49
2.5 Conclusões.....	52
Referências	52

3 FLUXO DE AMÔNIO, NITRATO, POTÁSSIO E HIDROGÊNIO EM RAÍZES FINAS DE <i>Eucalyptus grandis</i>	59
Resumo	59
Abstract.....	59
3.1 Introdução.....	60
3.2 Material e método	61
3.2.1 Produção de mudas.....	61
3.2.2 Medição dos fluxos de íons	63
3.2.3 Análise estatística	67
3.3 Resultados.....	67
3.4 Discussão	71
3.4.1 Variação dos fluxos de NH_4^+ , NO_3^- e K^+ ao longo da raiz	71
3.4.2 Variação do fluxo de H^+ ao longo da raiz.....	73
3.4.3 Efeito da solução pré-tratamento	74
3.5 Conclusões	75
Referências.....	76

RESUMO

Contribuição dos horizontes profundos do solo para o fornecimento de nutrientes em plantações de eucalipto

No Brasil, a alta produtividade das plantações florestais tem despertado grande interesse em relação à nutrição das árvores. Diante disso, este trabalho tratou de 2 estudos sobre a absorção de nutrientes pelas árvores de *Eucalyptus grandis*. O primeiro avaliou o potencial de absorção de N, K e Ca pelas árvores de *E. grandis* (6 anos de idade - 25 m de altura média) em função da profundidade, da textura e da umidade do solo. Através de tubos de plástico, aplicou-se conjuntamente os marcadores NO_3^- - ^{15}N , Rb^+ (análogo ao K^+) e Sr^{2+} (análogo ao Ca^{2+}) nas profundidades de 10, 50, 150 e 300 cm, num Latossolo vermelho textura média e num Latossolo vermelho argiloso. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com 3 repetições de pares de árvores por profundidade de injeção e por tipo de solo. Após a injeção dos marcadores nas quatro profundidades, coletou-se dessas árvores folhas recém expandidas em vários períodos do verão, sendo o experimento repetido no período do inverno. O conteúdo de água foi monitorado continuamente em diferentes profundidades dos dois solos. A partir das quatro profundidades de injeção dos marcadores, a determinação das concentrações foliares de Rb, de Sr e da percentagem de átomo de ^{15}N permitiu estimar a potencial absorção relativa (PAR) e a potencial absorção relativa específica (PARE), definida na divisão da PAR pela densidade de raízes finas em cm cm^{-3} (DRF), na camada de solo correspondente. O segundo, através de microeletrôdos seletivos de íons, mediu os fluxos de NH_4^+ , NO_3^- , K^+ e H^+ ($\text{nmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em soluções de NH_4NO_3 (50 μM) e KNO_3 (50 μM). Os microeletrôdos foram posicionados ao longo da raiz desde a ponta (0 cm) até 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 5,0; e 8,0 cm de distância da ponta da raiz. Os fluxos foram medidos na raiz fina de 4 mudas de *E. grandis* que permaneceram numa solução pré-tratamento menos concentrada (50 μM) e na raiz fina de 4 mudas que permaneceram numa solução pré-tratamento mais concentrada (500 μM). No primeiro estudo, os resultados sugeriram que as raízes finas de *E. grandis* apresentaram um contraste entre as taxas potenciais de absorção e a profundidade, dependendo do nutriente. No segundo estudo, a tendência de maior absorção K^+ e NH_4^+ em relação ao NO_3^- pôde ter ocorrido devido às células das raízes de *E. grandis* serem mais permeáveis ao K^+ e a forma preferencial de absorção de nitrogênio desta espécie ser o NH_4^+ . Os padrões distintos de absorção de NH_4^+ , K^+ e NO_3^- , desde a ponta da raiz das mudas de *E. grandis* até 8 cm de distância, puderam resultar das diferenças morfológicas, como: maior absorção de íons entre a zona de diferenciação e alongação celular das raízes e a zona de maturação celular (zona branca até 2 cm de distância da ponta); e diminuição da absorção na zona em que as células do córtex começaram a morrer ou já estavam mortas (zona escura entre 2 e 8 cm de distância da ponta da raiz).

Palavras-chaves: *Eucalyptus grandis*; ^{15}N ; NH_4^+ ; NO_3^- ; K^+ ; H^+ ; Rb^+ ; Sr^{2+} ; Potencial absorção de nutrientes; Microeletrôdo

ABSTRACT

Contribution of deep horizons of the soil to nutrients supply in eucalypts plantations

The high productivity of forest plantations in Brazil has attracted great interest in relation to the nutritional aspect of trees. Therefore, this work deals with two studies on nutrient uptake by trees of *Eucalyptus grandis*. The first assessed the potential uptake of N, K and Ca by *E. grandis* trees (6 years of age – 25 m mean height), in Brazil, as a function of soil depth, texture and water content. We injected NO_3^- - ^{15}N , Rb^+ (analogue of K^+) and Sr^{2+} (analogue of Ca^{2+}) tracers simultaneously in a solution through plastic tubes at 10, 50, 150 and 300 cm in depth in a sandy and a clayey Ferralsol soil. A complete randomized design was set up with 3 replicates of paired trees per injection depth and soil type. Recently expanded leaves were sampled at various times after tracer injection in the summer, and the experiment was repeated in the winter. Soil water contents were continuously monitored at the different depths in the two soils. Determination of foliar Rb and Sr concentrations and ^{15}N atom% made it possible to estimate the relative uptake potential (RUP) of tracer injections from the four soil depths and the specific relative uptake potential (SRUP), defined as RUP, per unit of fine root length density (RLD) in the corresponding soil layer. The second, in solutions of NH_4NO_3 (50 μM) and KNO_3 (50 μM) were measured the flows of NH_4^+ , NO_3^- , K^+ and H^+ ($\text{nmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) through microelectrodes selective ions. Along the root, the microelectrodes were positioned at the root tip (0 cm) to 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 5.0, and 8.0 cm away of the root tip. The flows were measured in fine roots of 4 *E. grandis* seedlings that remained in a pretreatment solution less concentrated (50 μM) and fine root of 4 seedlings that remained in pretreatment solution more concentrated (500 μM) through ion selective microelectrode. In the first study, the results suggest that the fine roots of *E. grandis* trees exhibit contrasting potential uptake rates with depth depending on the nutrient. In the second, the trend towards greater uptake K^+ and NH_4^+ in relation to NO_3^- may be due to the root cells of *E. grandis* are more permeable to K^+ and to the preferred form of nitrogen absorption of this species is NH_4^+ . The different absorptions patterns of NH_4^+ , K^+ and NO_3^- along the roots of *E. grandis* seedlings from the root tip up to 8 cm away can be the result of morphological differences, such as higher absorption of ions between the zone of cell differentiation and elongation of the roots and cell maturation zone (white zone up to 2 cm away from tip), and decreased absorption in the area where the cortical cells start dying or already are dead (dark zone between 2 and 8 cm away from the root tip).

Keywords: *Eucalyptus grandis*; ^{15}N ; NH_4^+ ; NO_3^- ; K^+ ; H^+ ; Rb^+ , Sr^{2+} ; Nutrient uptake potential; Microelectrodes

1 INTRODUÇÃO

O *Eucalyptus* é o gênero florestal mais plantado atualmente na zona tropical, abrangendo aproximadamente 15 milhões de hectares, dos quais 3 milhões se encontram no Brasil (FAO, 2001). O seu impacto ambiental tem despertado, há mais de 30 anos, importantes debates em diversos países (COSSALTER; PYE-SMITH, 2003). Dentre os benefícios destacam-se: a grande produção de madeira para diferentes fins industriais, o que reduz a pressão sobre as florestas naturais; a alta eficiência no uso dos recursos naturais; e a geração de empregos nas áreas rurais. Porém, as principais críticas estão relacionadas ao alto consumo hídrico e ao empobrecimento químico do solo em longo prazo (JAYAL, 1985; FEIO, 1989).

Pesquisas, utilizando-se de métodos empíricos, foram realizadas a fim de ajustar a recomendação de adubos às árvores de *Eucalyptus* em diversas condições pedoclimáticas (GONÇALVES et al., 2004). Os resultados evidenciaram que essas espécies respondem significativamente à aplicação de fertilizantes e ao manejo dos resíduos culturais (ATTIWILL; ADAMS, 1996; NAMBIAR et al., 2004). Mas para que se possa avaliar a sustentabilidade, em especial, a adaptação do gênero às mudanças ambientais (deficiências hídricas e nutricionais) e às modificações das práticas culturais, é importante conhecer a capacidade dessas plantações em suprir suas necessidades nutricionais através da absorção radicular de nutrientes, disponíveis tanto na superfície quanto nos horizontes profundos do solo.

Essa questão é de interesse geral e pode ser estudada em ótimas condições no Estado de São Paulo, onde as plantações de eucalipto apresentam rápido crescimento e períodos de rotação entre 6-7 anos, favorecendo assim, a rápida detecção de respostas às alterações no ecossistema. Além disso, as plantações estão, em sua maioria, implantadas em Latossolos que por serem profundos não apresentam obstáculos ao desenvolvimento do sistema radicular.

O sistema radicular das árvores, como na maior parte das plantas de ciclo anual, é mais abundante nos horizontes superficiais do solo. No entanto, foram observadas raízes em grandes profundidades (STONE; KALISZ, 1991; STONE; CRAMEFORD, 1994). Raízes de eucalipto, por exemplo, foram encontradas a 40 m de profundidade por Dell et al. (1993), na Austrália. No sítio específico, onde a pesquisa foi

implementada, um estudo mostrou a presença de raízes finas de *E. grandis* (< 2 mm de diâmetro) a 8 m de profundidade (CHRISTINA et al., 2011).

Uma das hipóteses, que provavelmente explica o desenvolvimento de raízes finas em horizontes profundos do solo, seria a possibilidade de acesso permanente aos recursos hídricos (NOY-MEIR, 1973). Tal hipótese pode ser confirmada por estudos realizados em ambientes áridos e semi-áridos (EUA, Chile, Austrália e África), onde as árvores são capazes de absorver água de camadas profundas, tanto ao longo da estação úmida (MOONEY et al., 1990; BURGESS et al., 1998; JACKSON et al., 2000; LUDWIG et al., 2003), quanto em períodos secos (ROUPSARD, 1997). Dados de umidade e de potencial hídrico do solo coletados durante um período superior a 20 anos, em Idaho/Texas/Nevada, nos EUA, mostraram que abaixo de 1 a 2 m de profundidade existe pouca variação na quantidade de água disponível às plantas (ANDRASKI, 1997; SCANLON et al., 1999; SEYFRIED et al., 2001). Assim, sugere-se que a absorção radicular de água nos horizontes profundos deve ser limitada. Todavia, por que razão as árvores desenvolvem raízes finas nesses horizontes? Além disso, elevadas concentrações de ácido carbônico foram observadas em camadas profundas de solos florestais (RICHTER; MARKEWITZ, 1995), sugerindo que importantes processos em relação à disponibilidade de nutrientes, tais como a decomposição da matéria orgânica e a intemperização dos minerais, ocorram também nesses horizontes (RICHTER; MARKEWITZ, 1995; CANADELL et al., 1996; JACKSON et al., 2000).

A quantificação da absorção radicular de nutrientes no perfil do solo é uma questão importante, tendo em vista que este recurso é distribuído de forma heterogênea nos diferentes horizontes (LEHMANN, 2003). Para o eucalipto, a importância da absorção radicular de nutrientes provenientes da decomposição da serapilheira ou dos horizontes superficiais do solo foi estudada no Brasil e no Congo (GONÇALVES, 1994; LACLAU, 2001; BOUILLET et al., 2002 ; LACLAU et al., 2003, 2004; GONÇALVES; MIRANDA, 2004). Porém, ainda é pouco conhecida a absorção radicular de nutrientes nos horizontes profundos do solo.

Modificações morfológicas e fisiológicas foram observadas em raízes de horizontes profundos do solo (EISSENSTAT; CALDWELL, 1988; JACKSON et al., 1990). Apesar de os resultados sugerirem fortes indícios sobre a funcionalidade das

raízes profundas em absorver nutrientes, poucos estudos têm sido conduzidos para averiguar os mecanismos de interação entre a disponibilidade de água e a absorção de nutrientes nos horizontes profundos dos solos (McCULLEY et al., 2004).

Medições da atividade radicular são complementares às medidas de densidade radicular para se estimar a absorção de nutrientes em profundidade (NELSON et al., 2006). As medidas da atividade radicular em diferentes camadas refletem a absorção real de nutrientes pelas plantas, enquanto que as medidas da abundância radicular não permitem distinguir as raízes ativas das não ativas (RADERSMA; ONG, 2004; ZUO et al., 2004). Portanto, é evidente a necessidade de se obter informações sobre a funcionalidade das raízes profundas do solo.

Este trabalho encontra-se subdividido em dois estudos. O primeiro teve por objetivo avaliar a potencial absorção de N, K e Ca pelas árvores de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maid., no final da rotação (6-7 anos pós-plantio), em diferentes profundidades, tipos de solo e teor de água. Nesse testou-se as seguintes hipóteses: 1) maior potencial de absorção relativa (PAR) (SOETHE et al., 2006) no horizonte superficial do solo para o NO_3^- - ^{15}N em relação ao Rb^+ e Sr^{2+} ; 2) maior potencial absorção relativa específica (PARE – que é PAR dividida pela densidade de raízes finas) para o Rb^+ e Sr^{2+} , nos horizontes profundos em relação ao horizonte superficial dos solos; 3) maior influência das mudanças no conteúdo de água no solo sobre o PAR e o PARE do NO_3^- - ^{15}N e Rb^+ em relação ao Sr^{2+} . O segundo estudo teve por objetivos: 1) avaliar em que parte das raízes finas de *Eucalyptus grandis* ocorre a maior absorção de nutrientes e 2) avaliar a absorção de NO_3^- , NH_4^+ e K^+ em mudas de *Eucalyptus grandis*. As hipóteses testadas foram: 1) maior absorção de NH_4^+ do que NO_3^- pelas mudas de *Eucalyptus grandis*; 2) maior absorção de K^+ em relação ao NO_3^- e 3) maior absorção de nutrientes na zona de divisão e alongação celular das raízes finas de *Eucalyptus grandis*.

Referências

ANDRASKI, B.J. Soil-water movement under natural-site and waste-site conditions: a multiple-year field study in the Mojave Desert, Nevada. **Water Resources Research**, Washington, v. 33, n. 8, p. 1901-1916, 1997.

- ATTIWILL, P.M.; ADAMS, M.A. **Nutrition of eucalypts**. Melbourne: CSIRO, 1996. 440 p.
- BOUILLET, J.-P.; LACLAU, J.-P.; ARNAUD, M.; M'BOU, A.T.; SAINT-ANDRÉ, L.; JOURDAN, C. Changes with age in the spatial distribution of roots of *Eucalyptus* clone in Congo: impact on water and nutrient uptake. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 171, n. 1/2, p. 43-57, 2002.
- BURGESS, S.S.O.; ADAMS, M.A.; TURNER, N.C.; ONG, C.K. The redistribution of soil water by tree root systems. **Oecologia**, Berlin, v. 115, n. 3, p. 306-311, 1998.
- CANADELL, J.; JACKSON, R.B.; EHLERINGER, J.B.; MOONEY, H.A.; SALA, O.E.; SCHULZE, E.D. Maximum rooting depth of vegetation types at the global scale. **Oecologia**, Berlin, v. 108, n. 4, p. 583-595, 1996.
- CHRISTINA, M.; LACLAU, J.; GONÇALVES, J.L.M.; JOURDAN, C.; NOUVELLON, Y.; BOUILLET, J.-P. Almost symmetrical vertical growth rates above and below ground in one of the world's most productive forests. **Ecosphere**, v. 2, n. 3, 2011. Disponível em: <<http://www.esajournals.org/doi/pdf/10.1890/ES10-00158.1>>. Acesso em: 04 jul. 2011.
- COSSALTER, C.; PYE-SMITH, C. **Fast-wood forestry: myths and realities**. Jakarta: CIFOR, 2003. 50 p.
- DELL, B.; BARTLE, J.; TACEY, W. Root occupation and root channels of jarrah forest subsoils. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 31, n. 6, p. 615-627, 1983.
- EISSENSTAT, D.M.; CALDWELL, M.M. Seasonal timing of root growth in favorable microsites. **Ecology**, Berlin, v. 69, n. 3, p. 870-873, 1988.
- FAO. **Global forest resources assessment: FRA 2000 main report**. Rome, 2001. (FAO. Forestry Paper, 140). Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/004/y1997e/y1997e00.htm>>. Acesso em: 11 mar. 2011.
- FEIO, M. **A reconversão da agricultura e a problemática do eucalipto**. Lisboa: Associação Central de Agricultura Portuguesa, 1989. 166 p.
- GONÇALVES, J.L.M. **Características do sistema radicular de absorção do *Eucalyptus grandis* sob diferentes condições edáficas**. 1994. 102 p. Tese (Livro Docência) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.
- GONÇALVES, J.L.M., MIRANDA, S.M. The root system of trees. In: GONÇALVES, J.L.M.; BENEDETTI, V. (Ed.). **Forest nutrition and fertilization**. Piracicaba: IPEF, 2004. p. 225-262.

GONÇALVES, J.L.M.; STAPE, J.L.; LACLAU, J.; SMETHURST, P.; GAVA, J.L. Silvicultural effects on the productivity and wood quality of eucalypt plantations. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 193, n. 1/2, p. 45-61, 2004.

JACKSON, R.B.; MANWARING, J.H.; CALDWELL, M.M. Rapid physiological adjustment of roots to localized soil enrichment. **Nature**, London, v. 344, n. 6261, p. 58-60, 1990.

JACKSON, R.B.; SPERRY, J.S.; DAWSON, T.E. Root water uptake and transport: using physiological processes in global predictions. **Trends in Plant Science**, London, v. 5, n. 11, p. 482-488, 2000.

JAYAL, N. Destruction of water resources - the most critical ecological crisis of East Asia. **Ecologist**, Berlin, v. 15, n. 1/2, p. 21-26, 1985.

LACLAU, J.-P. **Dynamique du fonctionnement minéral d'une plantation d'Eucalyptus. Effets du reboisement sur un sol de savane du littoral congolais conséquences pour la gestion des plantations industrielles**, 2001. 148 p. Thesis (Doctorat en Sciences de la Vie) - Institut National Agronomique Paris-Grignon, Paris, 2001.

LACLAU, J.-P.; DELEPORTE, P.; RANGER, J.; BOUILLET, J.; KAZOTTI, G. Nutrient dynamics throughout the rotation of *Eucalyptus* clonal stands in Congo. **Annals of Botany**, London, v. 91, n. 7, p. 879-892, 2003.

LACLAU, J.-P.; TOUTAIN, F.; M'BOU, A. T.; ARNAUD, M.; JOFFRE, R.; RANGER, J. The function of the superficial root mat in the biogeochemical cycles of nutrients in congolese *Eucalyptus* plantations. **Annals of Botany**, London, v. 93, n. 3, p. 249-261, 2004.

LEHMANN, J. Subsoil root activity in tree-based cropping systems. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 255, n. 1, p. 319-331, 2003.

LUDWIG, F.; DAWSON, T.; KROON, H.; BERENDSE, F.; PRINS, H. Hydraulic lift in *Acacia tortilis* trees on an East African savanna. **Oecologia**, Berlin, v. 134, n. 3, p. 293-300, 2003.

MCCULLEY, R.L.; JOBBÁGY, E.G.; POCKMAN, W.T.; JACKSON, R.B. Nutrient uptake as a contributing explanation for deep rooting in arid and semi-arid ecosystems. **Oecologia**, Berlin, v. 141, n. 4, p. 620-628, 2004.

MOONEY, H.A.; GULMON, S.L.; RUNDEL, P.W.; EHLERINGER, J. Further observations on the water relations of *Prosopis tamarugo* of the northern Atacama desert. **Oecologia**, Berlin, v. 44, n. 2, p. 177-180, 1980.

NAMBIAR, E.K.S.; RANGER, J.; TIARKS, A.; TOMA, T. **Site management and productivity in tropical plantation forests**: proceedings of workshops in Congo July 2001 and China February 2003. Indonesia: CIFOR, 2004. 226 p.

NELSON, P.N.; BANABAS, M.; SCOTTER, D.R.; WEBB, M.J. Using soil water depletion to measure spatial distribution of root activity in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) plantations. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 286, n. 1/2, p. 109-121, 2006.

NOY-MEIR, I. Desert ecosystems: environment and producers. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 4, n. 1, p. 25-51, 1973.

RADERSMA, S.; ONG, C.K. Spatial distribution of root length density and soil water of linear agroforestry systems in sub-humid Kenya: implications for agroforestry models. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 188, n. 1/3, p. 77-89, 2004.

RICHTER, D.D.; MARKEWITZ, D. How deep is soil? **BioScience**, Washington, v. 45, n. 9, p. 600-609, 1995.

SCANLON, B.R.; LANGFORD, R.P.; GOLDSMITH, R.S. Relationship between geomorphic settings and unsaturated flow in an arid setting. **Water Resources Research**, Washington, v. 35, n. 4, p. 983-999, 1999.

SEYFRIED, M.S.; MURDOCK, M.D.; HANSON, C.L.; FLERCHINGER, G.N.; VACTOR, S.V. Long-term soil water content database, Reynolds Creek Experimental Watershed, Idaho, United States. **Water Resources Research**, Washington, v. 37, n. 11, p. 2847-2851, 2001.

SOETHE, N.; LEHMANN, J.; ENGELS, C. The vertical pattern of rooting and nutrient uptake at different altitudes of a South Ecuadorian Montane Forest. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 286, n. 1, p. 287-299, 2006.

STONE, E.L.; COMERFORD, N.B. Plant and animal activity below the solum. In: CREMEENS, D.L.; BROWN, R.B.; HUDDLESTON, J.H. (Ed.). **Whole regolith pedology**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 57-74. (SSSA. Special Publication, 34).

ZUO, Q.; MENG, L.; ZHANG, R. Simulating soil water flow with root-water-uptake applying an inverse method. **Soil Science**, v. 169, n. 1, 2004. Disponível em: <http://journals.lww.com/soilsci/Fulltext/2004/01000/Simulating_Soil_Water_Flow_With_Root_Water_Uptake.2.aspx>. Acesso em: 10 mar. 2011.

2 ESPECIALIZAÇÃO FUNCIONAL DE RAÍZES FINAS DE *Eucalyptus*: CONTRASTE ENTRE AS TAXAS DE ABSORÇÃO POTENCIAL DOS MARCADORES DE NITROGÊNIO, POTÁSSIO E CÁLCIO VARIANDO A PROFUNDIDADE DO SOLO

Resumo

Pouco se sabe sobre a função das raízes profundas na nutrição das árvores e a sua capacidade em agir como uma rede de segurança contra a perda de nutrientes lixiviados da camada superficial do solo. Para isso, avaliou-se o potencial de absorção de N, K e Ca pelas árvores de *Eucalyptus grandis* (6 anos de idade - 25 m de altura média) em função da profundidade, da textura e da umidade do solo. Através de tubos de plástico, aplicou-se conjuntamente os marcadores NO_3^- - ^{15}N , Rb^+ (análogo ao K^+) e Sr^{2+} (análogo ao Ca^{2+}) nas profundidades de 10, 50, 150 e 300 cm, num Latossolo vermelho textura média e num Latossolo vermelho argiloso. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com 3 repetições de pares de árvores por profundidade de injeção e por tipo de solo. Coletou-se dessas árvores folhas recém expandidas em vários períodos após a injeção dos marcadores, no verão, sendo o experimento repetido no inverno. O conteúdo de água foi monitorado continuamente em diferentes profundidades dos dois solos. A partir das quatro profundidades de injeção dos marcadores a determinação das concentrações foliares de Rb, de Sr e da percentagem de átomo de ^{15}N permitiu estimar a potencial absorção relativa (PAR) e a potencial absorção relativa específica (PARE), definida na divisão da PAR pela densidade de raízes finas em cm cm^{-3} (DRF), na camada de solo correspondente. As maiores taxas de absorção dos marcadores foram encontradas na camada superficial dos solos, porém distribuições contrastantes da PAR foram observadas entre os três marcadores. Embora a PAR tenha sido maior para NO_3^- - ^{15}N em relação ao Rb^+ e Sr^{2+} nas camadas acima de 50 cm, os maiores valores da PARE foram encontrados para o Sr^{2+} e Rb^+ a 300 cm de profundidade no solo textura média, bem como no solo argiloso quando as soluções gravitacionais alcançaram essa profundidade. Os resultados sugeriram que as de raízes finas do *E. grandis* apresentaram um contraste entre as taxas potenciais de absorção e a profundidade, dependendo do nutriente. Essa especialização funcional das raízes pôde contribuir para a elevada taxa de crescimento das árvores de *E. grandis*, fornecendo de forma eficiente grandes quantidades de nutrientes, necessários ao longo do desenvolvimento das plantações.

Palavras-chaves: Sistema de raízes profundas; *Eucalyptus grandis*; ^{15}N ; Potencial absorção de nutrientes; Rubídio; Profundidade do solo; Estrôncio, Solo tropical

Abstract

Little is known about the role of deep roots in the nutrition of forest trees and their ability to provide a safety-net service taking up nutrients leached from the topsoil. To address this issue, we studied the potential uptake of N, K and Ca by *Eucalyptus grandis* trees (6 years of age – 25 m mean height), in Brazil, as a function of soil depth, texture and water content. We injected NO_3^- - ^{15}N , Rb^+ (analogue of K^+) and Sr^{2+} (analogue of Ca^{2+}) tracers simultaneously in a solution through plastic tubes at 10, 50, 150 and 300 cm in depth in a sandy and a clayey Ferralsol soil. A complete randomized design was set up with 3 replicates of paired trees per injection depth and soil type. Recently expanded leaves were sampled at various times after tracer injection in the summer, and the experiment was repeated in the winter. Soil water contents were continuously monitored at the different depths in the two soils. Determination of foliar Rb and Sr concentrations and ^{15}N atom% made it possible to estimate the relative uptake potential (RUP), of tracer injections from the four soil depths and the specific relative uptake potential (SRUP), defined as RUP, per unit of fine root length density (RLD), in the corresponding soil layer. The highest tracer uptake rates were found in the topsoil, but contrasting RUP distributions were observed for the three tracers. Whilst the RUP was higher for NO_3^- - ^{15}N than for Rb^+ and Sr^{2+} in the upper 50 cm of soil, the highest SRUP values for Sr^{2+} and Rb^+ were found at a depth of 300 cm in the sandy soil, as well as in the clayey soil when gravitational solutions reached that depth. Our results suggest that the fine roots of *E. grandis* trees exhibit contrasting potential uptake rates with depth depending on the nutrient. This functional specialization of roots might contribute to the high growth rates of *E. grandis* trees, efficiently providing the large amounts of nutrients required throughout the development of these fast-growing plantations.

Keywords: Deep root system; *Eucalyptus grandis*; ^{15}N ; Nutrient uptake potential; Rubidium; Soil depth; Strontium; Tropical soil

2.1 Introdução

Geralmente, as raízes das árvores concentram-se nas camadas superiores do solo (JACKSON et al., 1996; EAMUS et al., 2002; BRASSARD et al., 2009). No entanto, algumas espécies são capazes de desenvolvê-las nas camadas profundas (CANADELL et al., 1996; CASPER; JACKSON, 1997; FEIKEMA et al., 2010). A absorção de água das camadas profundas pelas árvores foi demonstrada não somente para as florestas estabelecidas em ambientes áridos (ROUPSARD et al., 1999; NADEZHDINA et al., 2007; BLEBY et al., 2010), mas também nas florestas de regiões

de clima equatorial e tropical úmido (OLIVEIRA et al., 2005; SCHENK; JACKSON, 2005; BRUNO et al., 2006; MARKEWITZ et al., 2010). No caso das plantações de *Eucalyptus* no Congo, observou-se a absorção de água abaixo de 5 m de profundidade (LACLAU et al., 2011); já no Brasil (CHRISTINA et al., 2011), na África do Sul (DYE et al., 1996) e na Austrália (ROBINSON et al., 2006), abaixo de 8 m.

Em contraste, sabe-se pouco sobre a contribuição das raízes profundas das árvores na absorção de nutrientes (BUXBAUM et al., 2005; BRASSARD et al., 2009). Os poucos trabalhos demonstram que as concentrações de cátions trocáveis normalmente diminuem em profundidade (JACKSON et al., 2000; KRISHNASWAMY; RICHTER, 2002), o que resulta no decréscimo da absorção de nutrientes. Tal aspecto foi observado em florestas temperadas (BURTON et al., 2000; BENNET et al., 2002; GÖRANSSON et al., 2008) e em sistemas agroflorestais (LEHMANN; MURUOKA, 2001; LEHMANN, 2003). No entanto, em algumas áreas específicas, elevadas concentrações de nutrientes podem ser encontradas em grandes profundidades (STONE; KALITZ, 1991; MORONI et al., 2004); e o subsolo pode conter temporariamente uma proporção significativa de nutrientes disponíveis, quando a baixa umidade nas camadas superficiais limita a absorção de nutrientes (LEHMANN, 2003) ou quando a redistribuição hidráulica e a recarga de água no solo ocorrem em profundidade (McCULLEY et al., 2004). As raízes profundas funcionam como uma rede de segurança, absorvendo os nutrientes disponíveis lixiviados e transferindo-os para a superfície do solo (ALLEN et al., 2004; JOBBÁGY; JACKSON, 2004; MULIA; DUPRAZ, 2006).

A distribuição das raízes finas conduz parcialmente a absorção de nutrientes pelas árvores ao longo do perfil do solo (ROWE et al., 2001; LEHMANN, 2003). Recentes estudos, baseados em raízes excisadas sob condições controladas, indicaram diferenças fisiológicas e funcionais entre as raízes superficiais e as profundas (GÖRANSSON et al., 2006; GÖRANSSON et al., 2007). A hipótese é de que as raízes dos horizontes profundos do solo são adaptadas à absorção de nutrientes específicos, disponíveis nessas regiões, durante o desenvolvimento das plantas. Complementarmente, estudos *in situ*, baseados em medições não destrutivas, são necessários para confirmar essa importante informação. Isótopos estáveis e elementos

raros têm sido usados em estudos sobre a absorção de nutrientes em sistemas agroflorestais tropicais (LEHMANN; MURAOKA, 2001; LEHMANN, 2003; ROWE et al., 2001, 2006); em florestas tropicais (POSZWA et al., 2009); em plantações de pinus na Flórida (VAN REES; COMERFORD, 1986); em florestas de pinus e em plantações de eucalipto na Europa (DAMBRINE et al., 1997); e em florestas boreais (GÖRANSSON et al., 2008). É importante observar que esses estudos não foram realizados em áreas tropicais com florestas plantadas de rápido crescimento. Além disso, a capacidade das árvores em absorver diferentes marcadores com diferentes características de mobilidade no solo, aplicados nas mesmas profundidades tem sido pouco estudada (BRANDTBERG et al., 2004; GÖRANSSON et al., 2008), bem como os efeitos das características do solo e do teor de água sobre a dinâmica da absorção de diferentes marcadores (HAVLIN et al., 2005).

O objetivo deste estudo foi avaliar a potencial absorção de N, K e Ca por árvores de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maid., em diferentes profundidades, tipos de solo e teor de água. Para isso, injetou-se simultaneamente NO_3^- - ^{15}N , Rb^+ e Sr^{2+} num solo textura média e num solo argiloso a 10, 50, 150 e 300 cm de profundidade, próximo de diferentes árvores. É importante salientar que ambos os solos tiveram monitoramento contínuo do teor de água em seus perfis. O NO_3^- é mais móvel no solo do que o K^+ (e seu análogo Rb^+) e do que o Ca^{2+} (e seu análogo Sr^{2+}) (BARBER, 1995). O experimento foi repetido durante a estação quente e fria do último ano de rotação de uma plantação comercial de *E. grandis* (6 anos), no município de Itatinga-SP. Este tipo de plantação de *E. grandis* foi escolhido por representar um dos ecossistemas florestais mais produtivos do mundo e por ser uma espécie florestal que desenvolve rapidamente seu sistema radicular nas camadas profundas do solo (CHRISTINA et al., 2011). As raízes profundas desempenham papel fundamental na nutrição das árvores, mantendo o crescimento quando as árvores são submetidas a condições adversas de menor absorção de nutrientes nas camadas superficiais do solo.

A evolução pode ser a responsável pela especialização do funcionamento das raízes das árvores de *E. grandis* na absorção de nutrientes específicos, dependendo das profundidades do solo, conforme sugerido para o carvalho nas florestas boreais (GÖRANSSON et al., 2007). Embora na Austrália, a mineralização do

nitrogênio diminua rapidamente com a profundidade do solo em áreas naturais de *E. grandis* (CONNELL et al., 1995), quantidades não insignificantes de K^+ e Ca^{2+} estão disponíveis nos horizontes profundos do solo (BATJES, 2008).

O presente estudo testou a hipótese de uma forte relação entre a disponibilidade de nutrientes no solo em florestas *Eucalyptus grandis* e a absorção de nutrientes de duas maneiras: 1) maior absorção proporcional na superfície do solo para o NO_3^- do que para os análogos de cátions potencialmente liberados pelo intemperismo nos horizontes profundos do solo (Rb^+ e Sr^{2+}) e 2) maior influência da umidade do solo na absorção de nutrientes para os íons de maior mobilidade.

2.2 Material e método

2.2.1 Área de estudo

O estudo foi conduzido numa área a 15 km de Itatinga, estado de São Paulo (22°58'04"S, 48°43'40"O) (Figura 2.1).



Figura 2.1 - Imagem de satélite da área experimental

A precipitação média anual dos últimos 15 anos foi de 1360 mm e a temperatura média anual foi de 19,0 °C, com estação fria e seca entre junho e setembro, apresentando neste período temperatura média de 17,2 °C e precipitação acumulada de 225 mm. O relevo da área de estudo é típico do Planalto Ocidental de São Paulo, com uma topografia suavemente ondulada.

As parcelas experimentais foram locadas num Latossolo vermelho distrófico textura média (solo textura média) e num Latossolo vermelho distrófico argiloso (solo argiloso) (EMBRAPA, 2006), ambos desenvolvidos sob arenito cretáceo, formação Marília, grupo Bauru. A inclinação das áreas foi < 5% com elevação máxima de 760 m acima do nível do mar. No local de estudo, o teor de argila até a profundidade de 300 cm variou de 16 a 28% no solo textura média e de 39 a 41% no solo argiloso (Tabela 2.1). A mineralogia foi dominada por caulinita, quartzo e oxihidróxidos (MAQUÈRE et al., 2008), com horizontes ácidos dos solos ($\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ variou entre 4,3 e 5,7). Tanto o solo

textura média quanto o solo argiloso foram caracterizados por baixas quantidades de nutrientes (soma de bases $< 4,0 \text{ mmol}_c \text{ kg}^{-1}$ abaixo de 15 cm). A concentração de K trocável foi de $0,1 \text{ mmol}_c \text{ kg}^{-1}$ abaixo de 15 cm no solo textura média e de $0,2 - 0,3 \text{ mmol}_c \text{ kg}^{-1}$ abaixo de 50 cm no solo argiloso. Já na de Ca trocável foi de $1,0 \text{ mmol}_c \text{ kg}^{-1}$ abaixo de 15 cm em ambos os solos. E na de N Total diminuiu regularmente com a profundidade em ambos os solos. Abaixo de 5 cm de profundidade, a abundância natural de $\delta^{15}\text{N}$ variou de 8,2 a 10,7 ‰ no solo textura média e de 9,3 a 11,5 ‰ no solo argiloso. Nenhum gradiente de mudança na abundância natural de $\delta^{15}\text{N}$ foi observado com aumento da profundidade dos solos.

Tabela 2.1 – Média dos atributos físicos e químicos dos solos

Profundidade Cm	Argila %	Silte %	Areia %	pH H ₂ O	MO g kg ⁻¹	P mg kg ⁻¹	Total C %	Total N %	¹⁵ N ‰	K	Na	Ca	Mg	H	Al	SB	CTC	V %
										mmol _c kg ⁻¹								
Solo argiloso																		
0-5	35,2	7,8	57,1	4,9	25,5	2,9	1,32	0,07	7,26	0,9	0,4	7,0	2,9	38,5	6,0	11,2	55,7	20,1
5-15	34,4	9,7	55,9	4,7	17,0	1,8	0,73	0,04	10,37	0,5	0,2	1,8	1,8	25,5	6,5	4,3	36,3	11,7
15-50	39,0	10,0	51,0	4,7	16,3	1,4	0,70	0,04	10,87	0,7	0,2	1,0	1,4	22,0	5,5	3,3	30,8	10,8
50-100	41,5	9,8	48,7	4,8	13,8	1,1	0,51	0,03	11,51	0,3	0,2	1,0	1,1	16,3	2,3	2,6	21,1	12,4
100-200	42,2	12,1	45,7	5,3	10,5	1,0	0,34	0,02	10,72	0,1	0,2	1,0	1,0	10,8	0,0	2,2	13,0	17,1
200-300	43,5	12,5	44,0	5,5	9,3	0,9	0,22	0,01	9,30	0,2	0,2	1,0	0,9	8,5	0,0	2,3	10,8	20,9
Solo textura média																		
0-5	17,4	5,5	77,0	4,7	35,0	3,2	1,61	0,07	4,81	0,6	0,4	6,7	6,3	48,3	6,7	14,0	69,0	20,3
5-15	16,2	1,3	82,5	4,3	14,3	2,0	0,54	0,03	8,22	0,2	0,2	1,8	1,5	26,0	8,8	3,7	38,4	9,5
15-50	18,2	2,1	79,7	4,5	11,3	1,5	0,40	0,02	9,80	0,1	0,1	1,0	1,0	14,3	5,8	2,2	22,2	10,0
50-100	20,2	1,4	78,4	4,5	10,0	1,1	0,38	0,02	10,64	0,1	0,1	1,0	1,0	13,3	5,0	2,2	20,5	10,8
100-200	22,9	3,6	73,6	4,5	8,3	1,1	0,27	0,01	10,66	0,1	0,1	1,0	1,0	8,3	2,5	2,2	12,9	16,8
200-300	23,4	4,0	72,6	5,0	7,0	0,9	0,18	0,01	10,30	0,1	0,1	1,0	1,0	4,3	1,0	2,2	7,4	29,3

C Total, N Total e ¹⁵N foram obtidos por meio de um espectrômetro de massa Hydra 20-20 acoplado a um analisador automático de N (ANCA-GSL, SERCON Co.). P foi determinado por Mehlich-1 e colorimetria, K e Na foram determinados por Mehlich-1 e fotometria; Ca e Mg foram determinados por extração através de KCl e absorção atômica. SB (Soma de Bases), CTC (Capacidade de Troca Catiônica); V (Saturação por Bases).

A área experimental (200 ha) foi replantada em Dezembro de 2002 com mudas de *E. grandis* e espaçamento de 3,75 x 1,60 m. Após a colheita anterior da área, os tocos de *E. grandis* foram desvitalizados com a aplicação de herbicida. Todas as mudas receberam uma adubação completa (62 kg ha⁻¹ de N, 52 kg ha⁻¹ de P, 131 kg ha⁻¹ de K, 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário além de micronutrientes), sendo uma parte aplicada no momento do plantio e outras três aplicações pós-plantio (6, 12, 24 meses). Uma adubação complementar de KCl (53 kg ha⁻¹ de K) foi aplicada aos 42 meses pós-plantio. Após 60 meses, a altura média das árvores foi de 22,7 m no solo textura média e de 27,4 m no solo argiloso. O incremento médio anual, em volume total do fuste, foi de 35 m³ ha⁻¹ ano⁻¹ no solo textura média e de 55 m³ ha⁻¹ ano⁻¹ no solo argiloso.

2.2.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi em blocos (200 x 100m) com parcelas casualizadas, sendo 3 implantados no solo textura média e outros 3 no solo argiloso. Em cada bloco, injetou-se marcadores em 4 profundidades (10, 50, 150 e 300 cm), sendo a injeção repetida no verão (Março de 2008) e no inverno (Setembro de 2008). Em cada profundidade, o NO₃⁻-¹⁵N, o Rb⁺ e o Sr²⁺ foram aplicados conjuntamente em 7 pontos distribuídos ao redor de 2 árvores vizinhas com a mesma área basal média do povoamento (Figura 2). A posição dos pontos foi ¼ (0,94 m) e ½ (1,88 m) na entrelinha, em ambos os lados da linha de plantio; na metade da distância (0,80 m) entre duas árvores amostradas na linha de plantio e na metade da distância (0,80 m) das duas árvores vizinhas mais próximas da linha de plantio (Figura 2.2). Os conjuntos de duas árvores localizavam-se a mais de 30 m uns dos outros. Realizou-se capina manual e química regularmente dentro de um raio de 20 m ao redor das árvores para manter o solo livre de plantas invasoras.

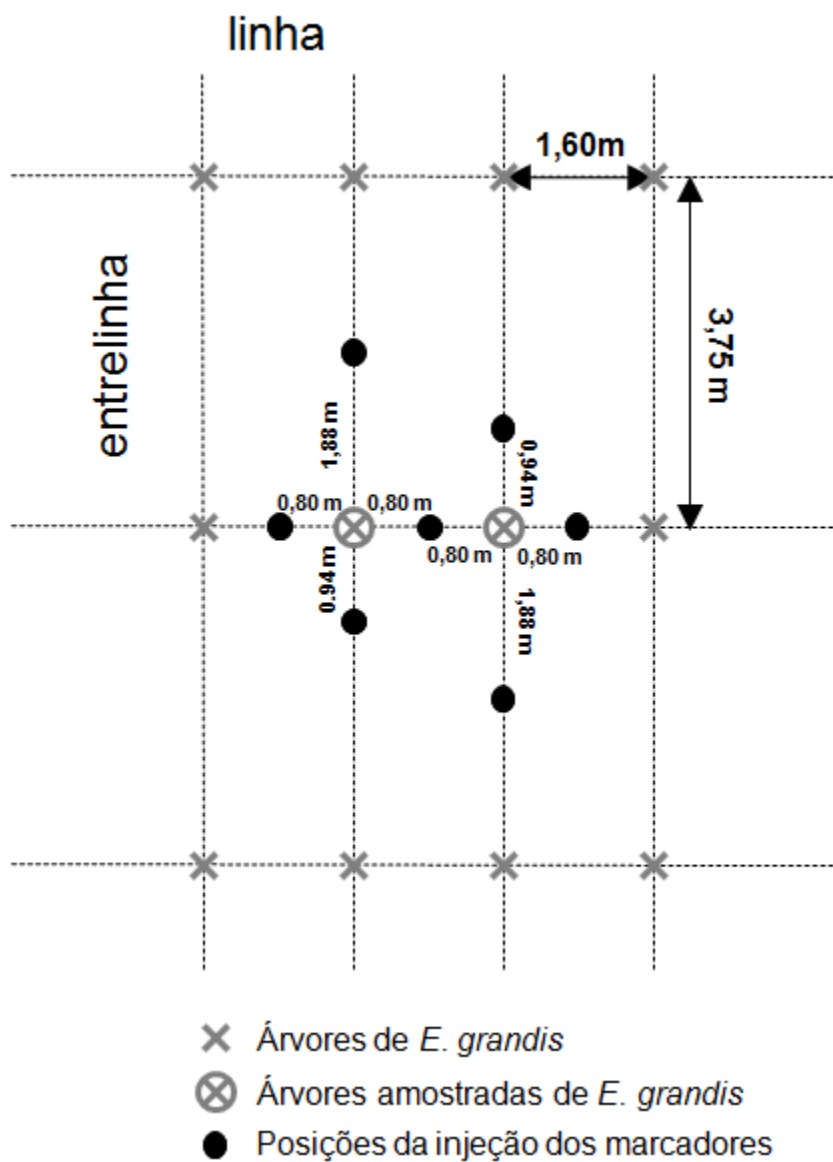


Figura 2.2 – Representação das posições onde os marcadores foram injetados para cada profundidade e para cada par de árvores amostradas. As amostras de folhas foram coletadas nas duas árvores centrais, em vários momentos após a injeção dos marcadores

2.2.3 Aplicação dos marcadores

Uma solução marcadora foi preparada no laboratório, na qual se dissolveu RbCl (118 g), SrCl₂ (256 g) e NH₄¹⁵NO₃ (10% de átomos NO₃⁻¹⁵N) (956 g) em 3360 ml de água destilada. A solução foi mantida a 4 °C, durante dois dias. Os pontos de aplicação foram perfurados a mão, usando um trado de aço inoxidável com 35 mm de diâmetro. Um tubo de PVC de 25 mm de diâmetro foi inserido nos furos para evitar a contaminação do perfil do solo durante a aplicação dos marcadores (Figura 2.3). Outro tubo de polietileno com 4 mm de diâmetro, conectado a uma barra de ferro, foi inserido dentro do tubo de PVC. Em seguida, injetou-se 20 ml da solução marcadora e 10 ml de água destilada para expelir todos os marcadores da seringa e lavar o tubo de polietileno. Em cada ponto foi aplicado 0,5 g de Rb⁺, 0,5 g de Sr²⁺ e 0,1 g de ¹⁵N. A concentração dos marcadores, nos 30 ml da solução injetada, foi de 0,20 de Rb⁺; 0,19 de Sr²⁺; 0,17 de NO₃⁻¹⁵N; e 1,60 mols L⁻¹ de N. Após a aplicação dos marcadores, os tubos de polietileno e de PVC foram cuidadosamente removidos, e o ponto de aplicação foi preenchido com o solo retirado durante a perfuração, respeitando a ordem original das camadas.

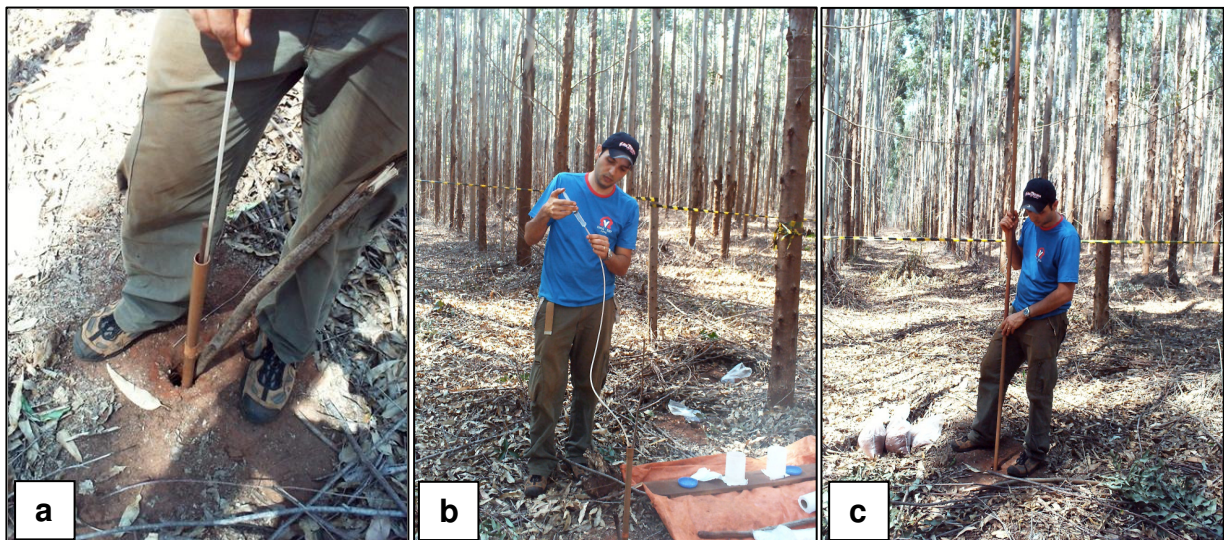


Figura 2.3 - Sequência de aplicação dos marcadores no solo: a – abertura do ponto de aplicação; b – aplicação da solução marcadora e aplicação da água destilada e c – preenchimento do ponto de aplicação

2.2.4 Amostragem e análises

As folhas jovens completamente expandidas foram coletadas, a partir da metade superior da copa de cada par de árvores amostradas. Para isso, foi necessário subir em torno de 20 m de altura sobre uma árvore vizinha das árvores selecionadas e, cortar seus galhos com um podão de cabo de alumínio (Figura 2.4).

A fim de se obter os valores de fundo das concentrações de Rb^+ , de Sr^{2+} e do percentual de NO_3^- - ^{15}N , coletou-se amostras de folhas de 4 árvores, antes da injeção de verão dos marcadores, em ambos os solos. Coletou-se também, antes da injeção de inverno dos marcadores, amostras de folhas de 4 árvores por bloco, totalizando 12 árvores, em cada tipo de solo. Na sequência, aos 15, 35, 70 e 115 dias pós-injeção dos marcadores, coletou-se 40 folhas de cada par de árvores (20 folhas por árvores). Realizou-se uma coleta adicional de folhas aos 230 dias pós-injeção de inverno dos marcadores. As folhas foram lavadas em água deionizada, secadas em estufa por 3 dias a 65 °C, moídas e armazenadas em frascos de acrílico lacrados até a análise química e isotópica. A determinação das concentrações de Rb^+ e de Sr^{2+} foi realizada através da digestão de 0,5 g de amostras de folhas moídas, em uma mistura de 5 ml de ácido nítrico (16 M) e 1 ml de ácido perclórico (12 M), seguida da análise num espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS Agilent 7500ce, Agilent Technologies, Tokyo, Japão). O ^{15}N (% de átomos) e N Total foram determinados através da digestão de 10 mg de folhas moídas em ácido sulfúrico (18 M) e analisados em um espectrômetro de massa 20 - 20 acoplado a um analisador automático de N (ANCA-GSL, SERCON Co., Crewe, UK) (BARRIE; PROSSER, 1996). O limite de detecção do Rb e do Sr foi $0,018 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,020 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente. Durante a análise, o desvio padrão relativo foi inferior a 0,5 %. A precisão das medições isotópicas foi 0,001 % de átomo de ^{15}N .



Figura 2.4 - Realização da coleta de folhas do par de árvores amostradas

2.2.5 Estimações da PAR e da PARE

Primeiramente, analisaram-se as concentrações foliares de Rb^+ , de Sr^{2+} e a percentagem de átomos de ^{15}N para todas as datas de amostragem e para cada tipo de solo em apenas um bloco, a fim de verificar as melhores datas para análise dos blocos restantes. Definidas as datas, as análises das folhas dos blocos restantes foram realizadas aos 70 e 115 dias pós-injeção de verão/inverno e aos 230 dias pós-injeção de inverno.

A potencial absorção relativa (PAR) (SOETHE et al., 2006) foi calculada para cada tipo de solo, usando a eq. (2.1)

$$PAR_{ip} (\%) = [(T_{ip} - T_{io}) / (T_{i10} - T_{io}) + (T_{i50} - T_{io}) + (T_{i150} - T_{io}) + (T_{i300} - T_{io})] \times 100 \quad (2.1)$$

sendo PAR_{ip} a potencial absorção relativa do marcador i na profundidade p . T_{ip} a concentração foliar (Rb e Sr) ou percentagem de átomos (^{15}N) do marcador i na profundidade p . T_{io} o valor de fundo da concentração foliar (Rb e Sr) ou percentagem de átomos (^{15}N) do marcador i . T_{i10} , T_{i50} , T_{i150} e T_{i300} as concentrações foliares (Rb e Sr) ou percentagem de átomos (^{15}N) do marcador i em 10, 50, 150 e 300 cm de profundidade.

A potencial absorção relativa específica (PARE) foi calculada para cada tipo de solo, usando a eq. (2.2)

$$PARE_{ip} (\% \text{ cm}^{-1} \text{ cm}^3) = PAR_{ip} / DRF_p \quad (2.2)$$

sendo $PARE_{ip}$ a potencial absorção relativa específica do marcador i na profundidade p e DRF_p a densidade de raízes finas na profundidade p .

As DRFs foram estimadas através do número de intercepções de raízes com diâmetro inferior $< 1\text{mm}$ por cm^2 (Nt), usando a equação de calibração empírica estabelecida por Maurice et al. (2010), para a mesma plantação de *E. grandis* (nos dois tipos de solo e na mesma época do presente estudo). O Nt foi contado através de uma grade com unidades de $5 \times 5 \text{ cm}$ até 300 cm de profundidade (Figura 2.5), em 6 perfis de cada tipo de solo, perpendiculares à linha de plantio (BOUILLET et al., 2002). Os valores médios de DRF para os 6 perfis de cada solo foram estimados nas camadas 5 cm acima e abaixo de cada profundidade (ex. entre 5 - 15 cm para 10 cm de profundidade, entre 45 - 55 cm para 50 cm, entre 145 - 155 cm para 150 cm e entre 295 - 305 cm para 300 cm de profundidade).

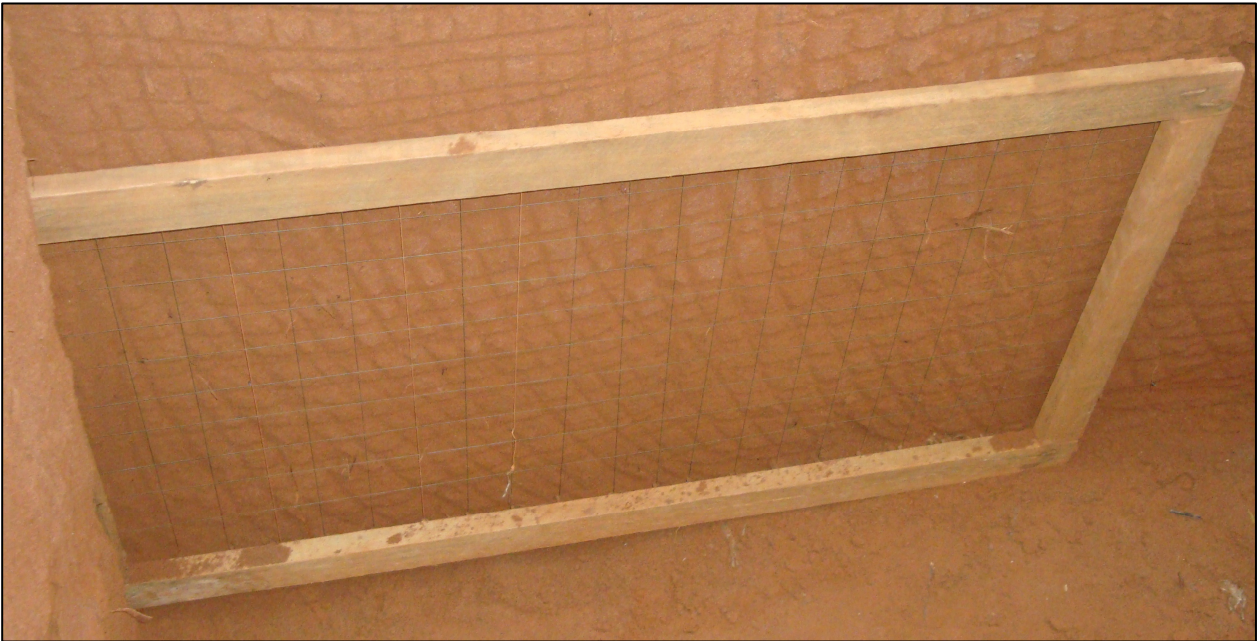


Figura 2.5 - Grade com unidades de 5 x 5 cm para a contagem do número de intercepções de raízes com diâmetro inferior < 1mm

2.2.6 Monitoramento da água nos solos

Durante todo o período de estudo, o conteúdo de água foi monitorado no solo textura média. Em relação ao solo argiloso, o mesmo procedimento teve início em Maio de 2008. Nas profundidades de 15, 50 e 100 cm, foram instalados horizontalmente 5 e 4 repetições dos sensores CS616 (Campbell Scientific, Shepshed, UK) em 5 trincheiras, no solo textura média e em 4 trincheiras, no solo argiloso, em diferentes distâncias das árvores, respectivamente. Nas profundidades de 200 e 300 cm, foram instalados 3 repetições dos sensores em 3 trincheiras para ambos os solos. Após a instalação dos sensores, as trincheiras foram aterradas, respeitando a disposição natural dos horizontes. As medições foram feitas em intervalos de 30 minutos com tempo médio de 30 segundos, usando um CR1000 e dois AM416 Multiplexers em cada solo (Campbell Scientific). Os sensores foram calibrados utilizando os dados do método gravimétrico.

2.2.7 Análise estatística

A dinâmica das concentrações de Rb, de Sr e da percentagem de átomos de ^{15}N nas folhas, aos 70 dias pós-injeção dos marcadores, proporcionou a estimativa da PAR e da PARE, permitindo comparar as taxas de absorção dos marcadores, quando o acúmulo nas folhas aproximou dos valores máximos (Figura 2.7). A hipótese de uma maior absorção proporcional na superfície do solo de NO_3^- - ^{15}N do que de Rb^+ e de Sr^{2+} foi testada através da análise de variância da PAR e da PARE com três modelos lineares, incluindo as interações de primeira ordem entre os fatores.

No modelo 1, comparou-se as PARs entre as profundidades para um determinado marcador, tendo como fatores: solo, profundidade, estação e repetição dentro do solo. No modelo 2, comparou-se as PARs a uma dada profundidade para os diferentes marcadores, tendo como fatores: solo, marcador, estação e repetição dentro do solo. No modelo 3, comparou-se as PAREs entre as profundidades para um determinado marcador, tendo como fatores: solo, profundidade, estação e repetição dentro do solo.

A hipótese de uma maior influência da disponibilidade de água sobre a absorção de NO_3^- do que Rb^+ e Sr^{2+} foi testada através da análise de variância das diferenças da PAR e da PARE, na profundidade de 300 cm, entre 70 dias e 230 dias pós-injeção de inverno dos marcadores, quando ocorreu um aumento significativo no conteúdo de água nos solos (Figura 2.10). Para isso, usou-se um modelo de interação de primeira ordem (modelo 4), tendo como fatores: solo, marcador e repetição dentro do solo.

O procedimento GLM do SAS 6.11 foi utilizado (SAS Institute, Cary, NC, EUA). A homogeneidade das variâncias foi testada através do teste de Levene e a distribuição normal dos resíduos foi testada com o teste de Kolmogorov–Smirnov. Os valores da PAR foram transformados através do procedimento asen(raiz) quando as variâncias não foram homogêneas. O teste de Bonferroni foi utilizado para as comparações múltiplas com nível de significância de 0,05.

2.3 Resultados

2.3.1 Distribuição de raízes finas

Os valores de DRF foram em média 54 % maiores no solo argiloso do que no solo textura média (Figura 2.6). Eles diminuíram acentuadamente de 10 a 50 cm de profundidade e ainda mais até 300 cm de profundidade. No solo argiloso, a DRF nas profundidades de 50, 150 e 300 cm representou 18 %, 19 % e 6 % da encontrada em 10 cm de profundidade. No solo textura média, as proporções foram de 35 %, 19 % e 11 %, respectivamente.

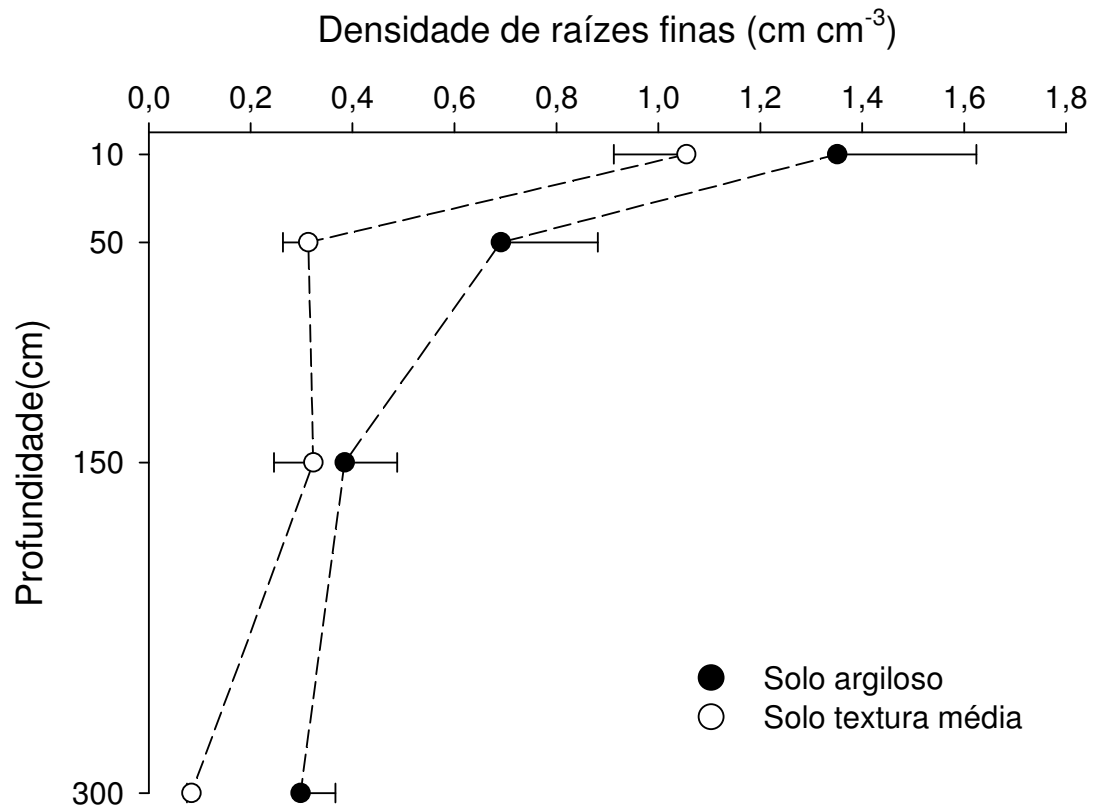


Figura 2.6 - Densidade média de raízes finas (DRF) em cm cm^{-3} (diâmetro <1 mm) no solo argiloso e no solo textura média, nas profundidades de 10, 50, 150 e 300 cm. As barras horizontais indicam os desvios padrões em cada profundidade ($n = 6$)

2.3.2 Concentração de Rb, de Sr e a percentagem de ^{15}N nas folhas

Nas folhas completamente expandidas, as maiores concentrações dos marcadores foram encontradas na maioria dos períodos de amostragem, quando aplicados no horizonte superficial dos solos (Figura 2.7). As concentrações foliares de Rb e de Sr aumentaram rapidamente, próximas aos valores máximos observados, geralmente aos 15 dias pós-injeção dos marcadores (com exceção do Rb aplicado em 300 cm de profundidade, no solo textura média). Ao injetar o NO_3^- - ^{15}N na camada superficial do solo, verificou-se um aumento na percentagem foliar de átomos de ^{15}N apenas entre 35 e 70 dias pós-injeção. Quando este marcador foi injetado em profundidade, tal aumento foi adiado.

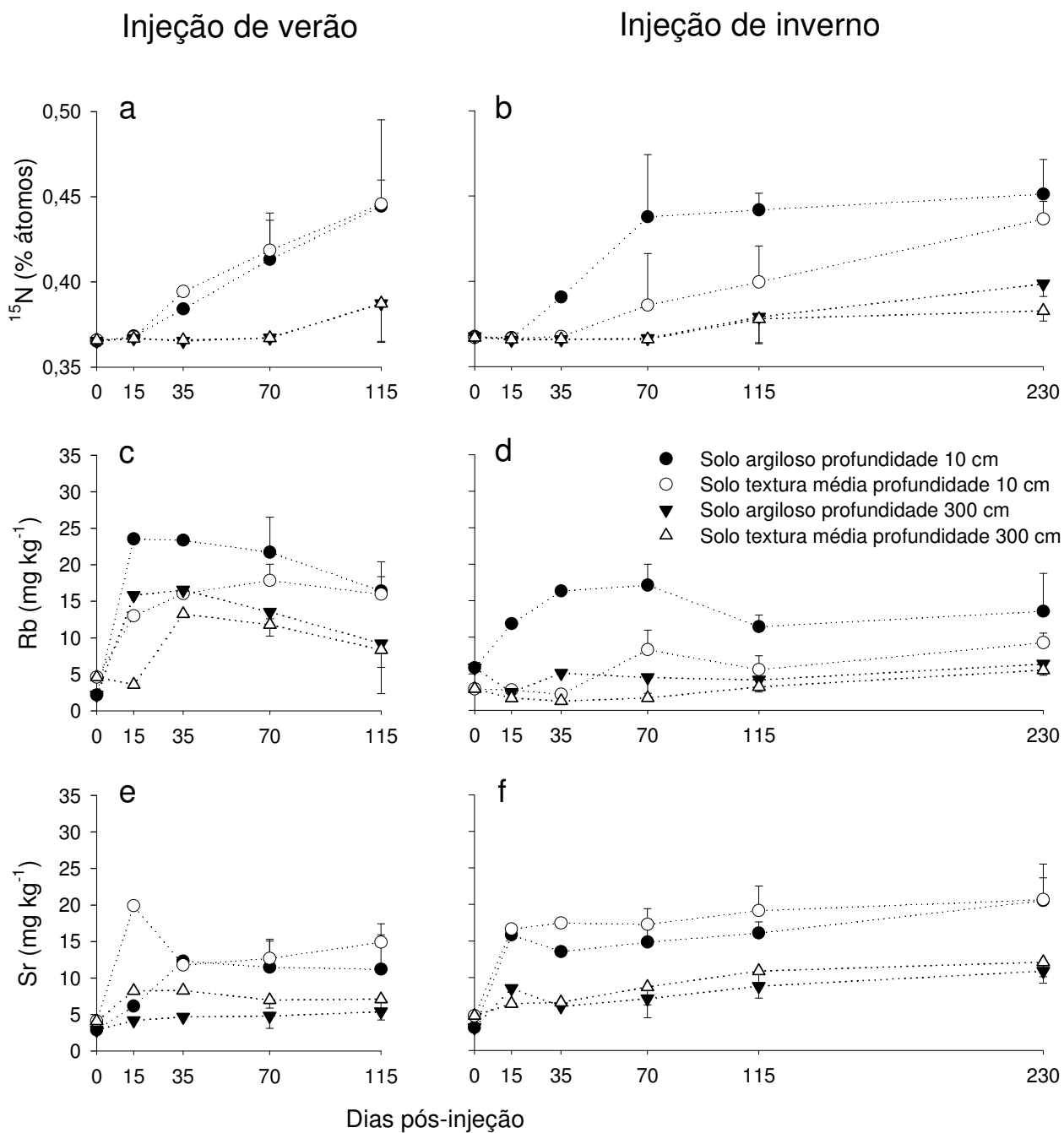


Figura 2.7 - Mudanças nas concentrações foliares de Rb, de Sr e a percentagem de átomos de ^{15}N pós-injeção de verão e de inverno dos marcadores, no solo argiloso e textura média. Os desvios padrões em cada profundidade são indicados a partir de 70 dias pós-injeção dos marcadores ($n = 3$)

2.3.3 Potencial absorção relativa dos marcadores (PAR)

As PARs do NO_3^- - ^{15}N , Rb^+ e Sr^{2+} , aos 70 dias pós-injeção, foram significativamente influenciadas pela profundidade de injeção dos marcadores ($F > 46,9$; $P < 0,01$), mas não pelo tipo de solo e estação (modelo 1). As PARs foram significativamente diferentes entre as profundidades de amostragem, exceto entre 150 e 300 cm de profundidade para o NO_3^- - ^{15}N ; e 50 e 150 cm de profundidade para o Rb^+ (Figura 2.8). Uma significativa interação entre profundidade e estação climática para o Rb^+ ($F = 19,0$; $P < 0,01$) foi resultado de uma diminuição da PAR com a profundidade de injeção, sendo esta diminuição maior na aplicação de inverno do que na de verão.

As PARs foram significativamente influenciadas pelo tipo de marcador ($F > 12,3$; $P < 0,01$) em cada profundidade de injeção, mas não pelo tipo de solo e estação (modelo 2). Na profundidade de 10 cm, a PAR do NO_3^- - ^{15}N foi significativamente maior em relação à mostrada pelo Rb^+ e Sr^{2+} com valores médios de 72,3 %, 42,0 % e 41,9 %, respectivamente (Figura 2.8). Nas outras três profundidades, a PAR do NO_3^- - ^{15}N foi significativamente menor do que a dos outros marcadores. A PAR do Rb^+ e Sr^{2+} não foi significativamente diferente, qualquer que seja a profundidade de injeção dos marcadores.

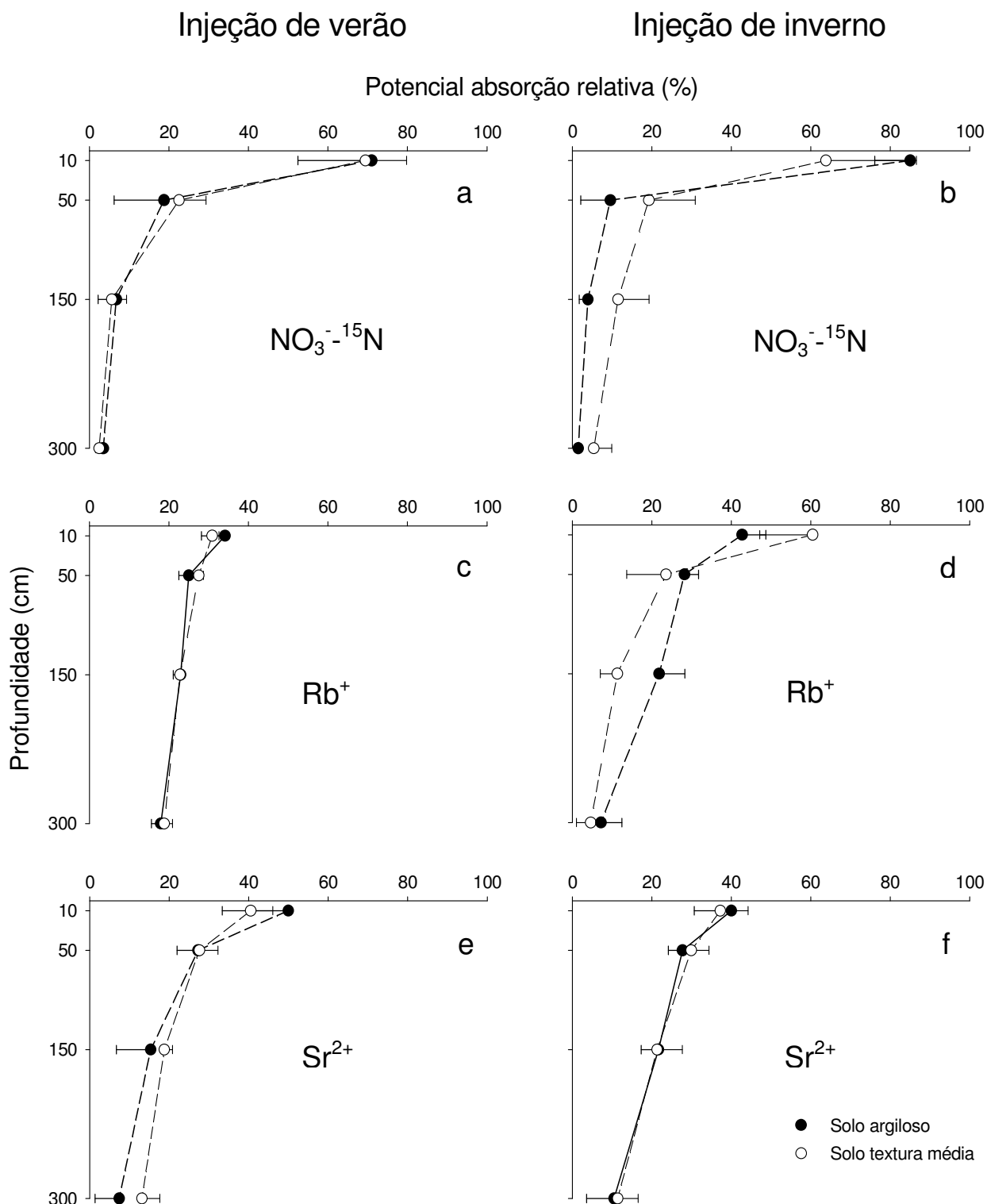


Figura 2.8 - Potencial absorção relativa (PAR) do $\text{NO}_3^-^{15}\text{N}$, Rb^+ e Sr^{2+} em 10, 50, 150 e 300 cm de profundidade, no solo argiloso e no solo textura média. As PARs do $\text{NO}_3^-^{15}\text{N}$, Rb^+ e Sr^{2+} foram calculadas aos 70 dias pós-injeção de verão dos marcadores (a, c, e, respectivamente) e aos 70 dias pós-injeção de inverno (b, d, f, respectivamente). Os desvios padrões estão indicados em cada profundidade (n = 3)

2.3.4 Potencial absorção relativa específica dos marcadores (PARE)

A PARE do $\text{NO}_3^-^{15}\text{N}$ foi influenciada significativamente pelo tipo de solo ($F = 17,6$; $P < 0,01$) e pela profundidade de injeção ($F = 8,6$; $P < 0,01$), mas não pela estação (modelo 3). A PARE do $\text{NO}_3^-^{15}\text{N}$ foi significativamente maior a 10 cm de profundidade do que a 150 e 300 cm de profundidade, com valores médios de 60,4, 20,2 e 27,6 % $\text{cm}^{-1} \text{cm}^3$, respectivamente (Figura 2.9 a, b). A PARE do $\text{NO}_3^-^{15}\text{N}$ foi duas vezes maior no solo textura média (50,8 % $\text{cm}^{-1} \text{cm}^3$) do que no solo argiloso (25,1 % $\text{cm}^{-1} \text{cm}^3$).

A PARE do Rb^+ foi influenciada significativamente pelo tipo de solo ($F = 40,6$; $P < 0,01$), pela profundidade de injeção ($F = 15,0$; $P < 0,01$) e pela estação ($F = 21,2$; $P < 0,01$); com interações significativas entre esses fatores ($F > 11,6$; $P < 0,01$) (modelo 3). Na injeção de verão, observou-se uma tendência de aumento da PARE do Rb^+ com o aumento da profundidade (Figura 2.9 c).

A PARE do Sr^{2+} foi influenciada significativamente pelo tipo de solo ($F = 48,5$; $P < 0,01$) e pela profundidade de injeção, com significativas interações entre estes dois fatores ($F = 14,6$; $P < 0,01$) (modelo 3). Essa interação resultou do aumento da PARE do Sr^{2+} com o aumento da profundidade de injeção no solo textura média (de 36,8 para 146,6 % $\text{cm}^{-1} \text{cm}^3$ em média, nas profundidades de 10 e 300 cm, respectivamente), enquanto que os valores da PARE no solo argiloso foram pouco afetados pela profundidade no solo argiloso (variando de 30,1 a 48,1 % $\text{cm}^{-1} \text{cm}^3$, independentemente da profundidade de injeção e estação) (Figura 2.9 e, f). A PARE do Sr^{2+} foi maior no solo textura média do que no solo argiloso, com valores médios de 84,3 e 37,8 % $\text{cm}^{-1} \text{cm}^3$, respectivamente.

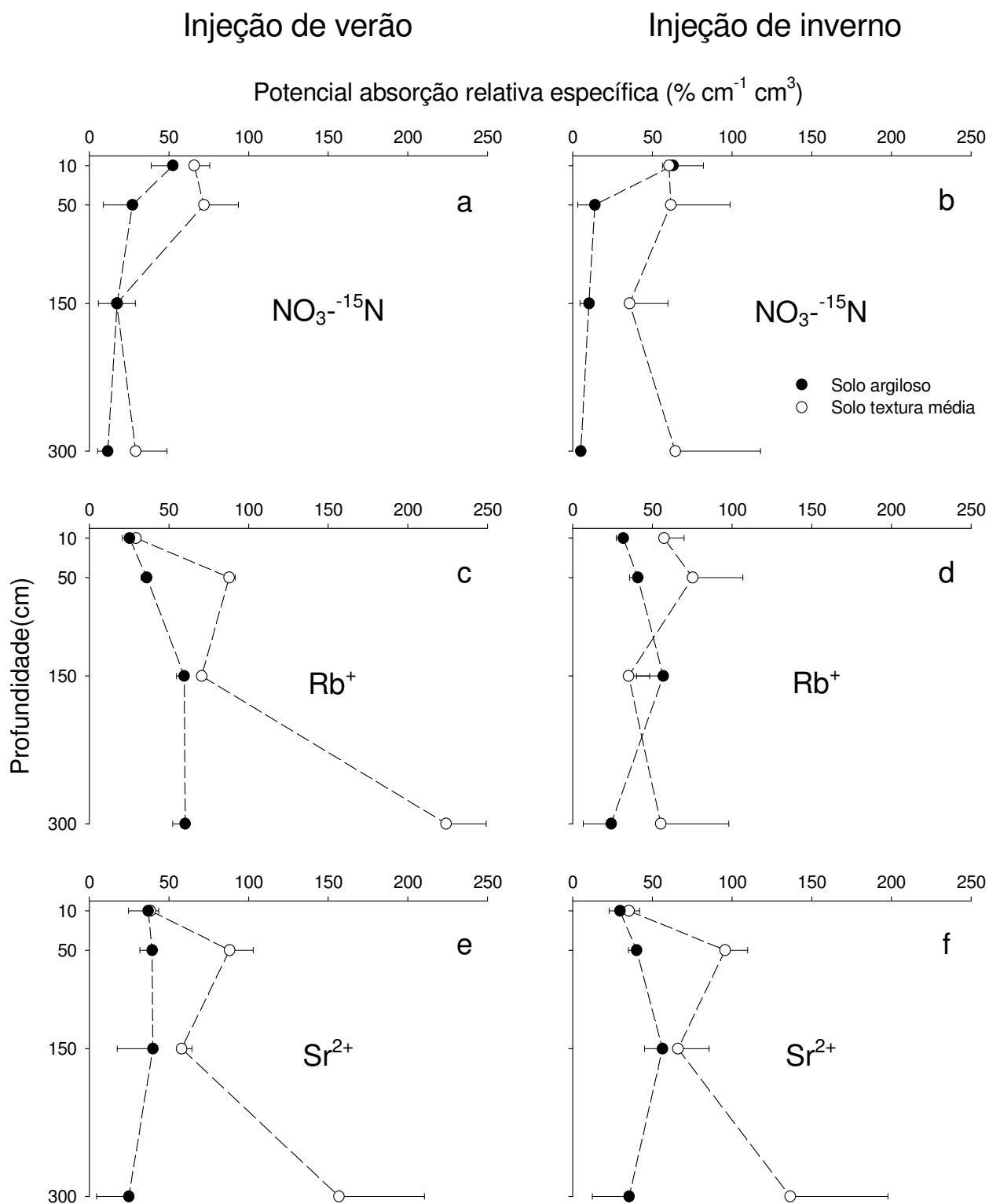


Figura 2.9 - Potencial absorção relativa específica (PARE) do $\text{NO}_3^-^{-15}\text{N}$, Rb^+ e Sr^{2+} em 10, 50, 150 e 300 cm de profundidade, no solo argiloso e no solo textura média. As PAREs do $\text{NO}_3^-^{-15}\text{N}$, Rb^+ e Sr^{2+} foram calculadas aos 70 dias pós-injeção de verão dos marcadores (a, c, e, respectivamente) e aos 70 dias pós-injeção de inverno (b, d, f, respectivamente). Os desvios padrões estão indicados em cada profundidade ($n = 3$)

2.3.5 Influência do teor de água do solo sobre a PAR e PARE

O aumento do teor de água ocorreu nos horizontes superiores do solo textura média e do solo argiloso, após cada evento chuvoso (Figura 2.10). Em contraste, a umidade do solo manteve-se próxima aos valores mínimos de 300 cm de profundidade na maior parte do período de estudo, exceto em períodos de elevada pluviosidade. Nesta profundidade, observou-se um aumento no teor de água no solo textura média, pouco antes da injeção de verão dos marcadores e nos dois solos na injeção de inverno, entre 115 e 200 dias pós-injeção dos marcadores.

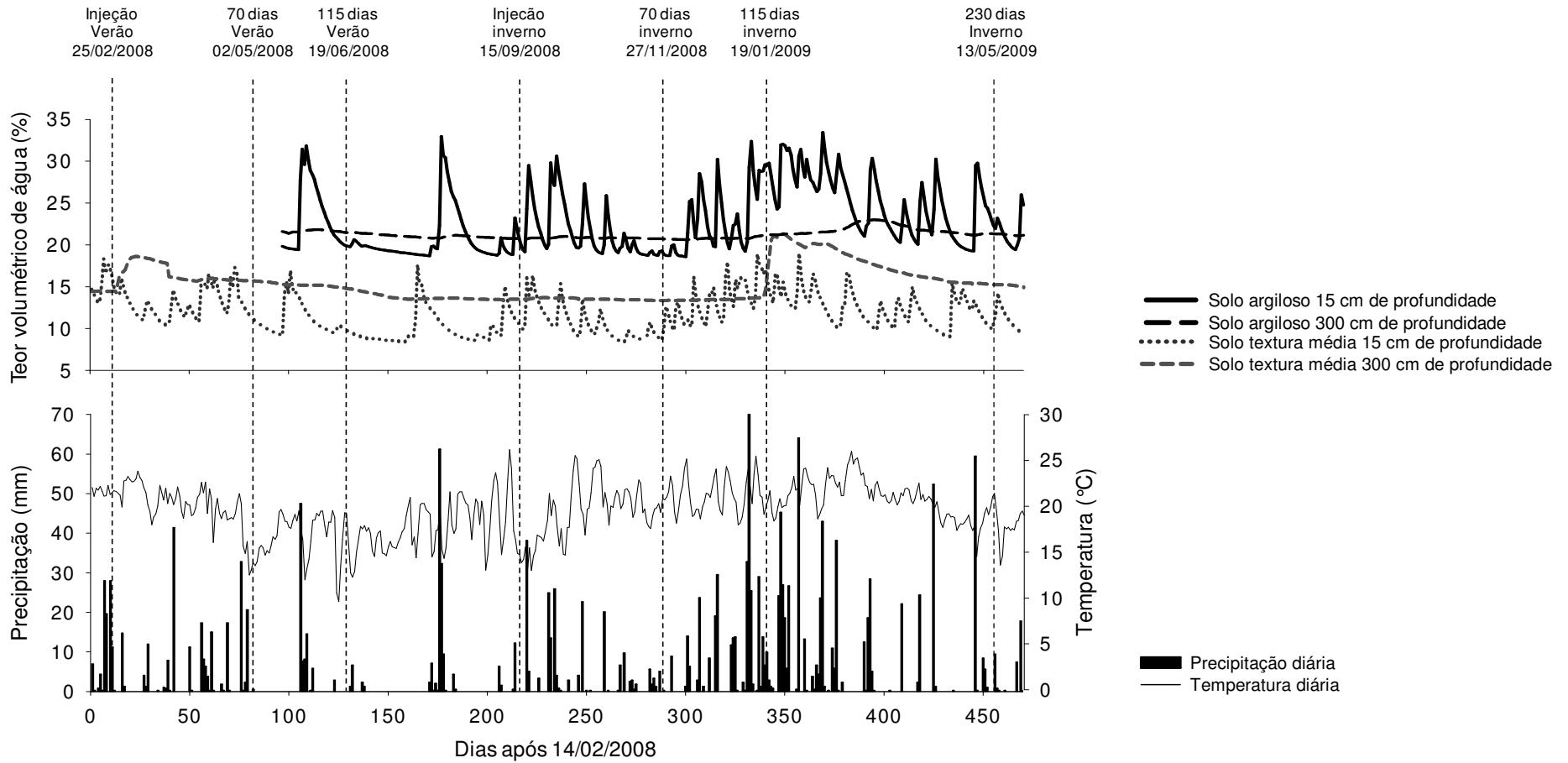


Figura 2.10 - Precipitação, temperatura do ar e teor de água no solo, nas profundidades de 15 e 300 cm no solo textura média e no solo argiloso, durante o período do estudo. O teor de água nos solos foi medido com sensores CS616 (em cada solo, 4-5 sensores em 15 cm de profundidade e 3 sensores em 300 cm de profundidade)

As PARs e PAREs aumentaram nos dois solos a 300 cm de profundidade, entre 70 e 230 dias pós-injeção de inverno dos marcadores (Figura 2.11), com exceção do Sr^{2+} no solo textura média. O aumento nas PARs entre 70 e 230 dias não foi influenciado pelos solos e marcadores, sendo os valores médios de + 9,5, + 9,9 e + 5,7 % para o NO_3^- - ^{15}N , Rb^+ e Sr^{2+} , respectivamente (modelo 4). Diferenças significativas no aumento da PARE entre 70 e 230 dias pós-injeção foram observadas entre os marcadores ($F = 8,5$; $P < 0,02$), mas não entre os solos. O aumento na PARE no solo textura média foi de + 73,2, + 149,0 e + 64,4 % $\text{cm}^{-1} \text{cm}^3$ para o NO_3^- - ^{15}N , Rb^+ e Sr^{2+} , respectivamente. O correspondente aumento no solo argiloso foi de + 43,1, + 24,3 e + 20,5 % $\text{cm}^{-1} \text{cm}^3$.

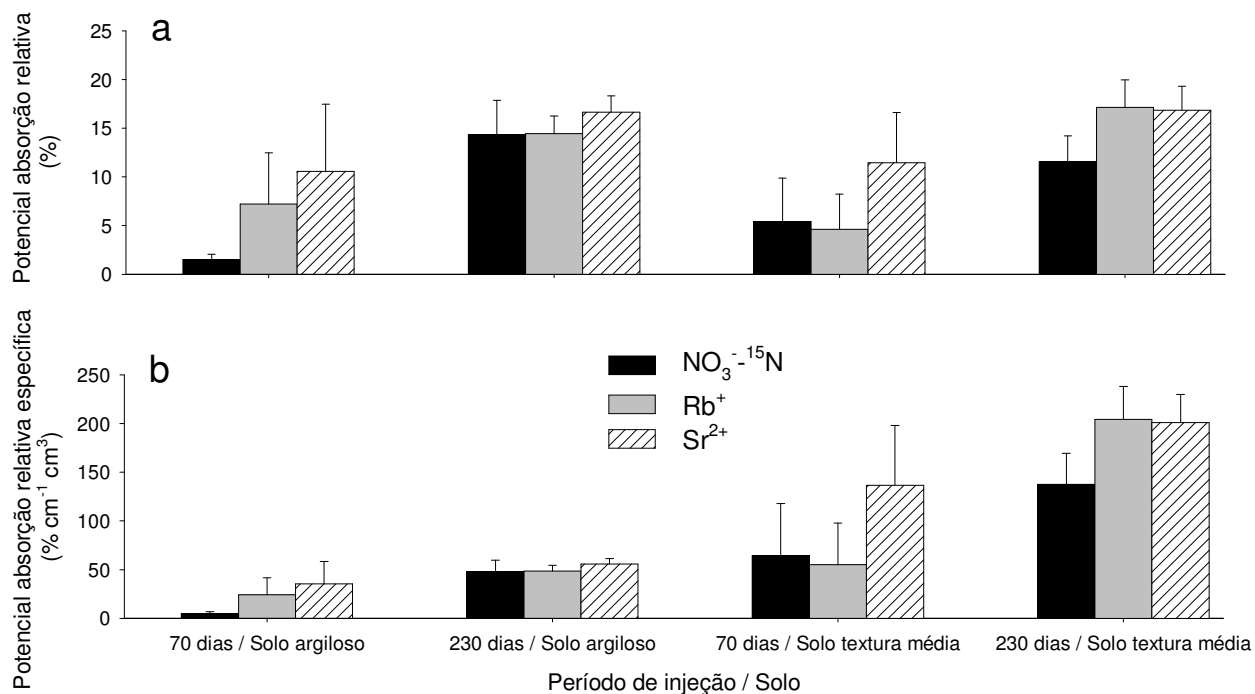


Figura 2.11 - PAR (a) e PARE (b) do NO_3^- - ^{15}N , Rb^+ e Sr^{2+} , em 300 cm de profundidade no solo argiloso e no solo textura média, aos 70 e 230 dias pós-injeção dos marcadores. Os desvios padrões estão indicados para cada marcador ($n = 3$)

2.4 Discussão

2.4.1 Dinâmica da concentração foliar e absorção dos marcadores

O monitoramento do acúmulo dos marcadores, nas folhas recém expandidas de *E. grandis*, mostrou um atraso no aumento da porcentagem de átomos de ^{15}N quando comparado às concentrações de Rb e Sr, em ambas as estações. Este padrão pôde ser explicado em parte pelo uso de fertilizante de nitrato de amônio, enriquecido com ^{15}N proveniente apenas do nitrato. Garnett et al. (2001, 2003) utilizando microeletródos seletivo de íons, encontraram uma maior absorção de amônio do que de nitrato para mudas de *Eucalyptus nitens* e de *Eucalyptus globulus*, com um mês de idade. Um processo chave para a absorção e assimilação de nitrato é a atividade da nitrato redutase (ANR) na planta (EDDY et al., 2008). Altas concentrações de NH_4^+ , na solução do solo, podem reduzir a absorção de NO_3^- (BOUKCIM; PLASSARD, 2003) e a ARN nas raízes (NICODEMOS et al., 2008). Embora a maioria das espécies herbáceas apresente maior ARN na parte aérea do que nas raízes, o contrário é geralmente encontrado para as espécies lenhosas (MILLER; CRAMER, 2005). Altas concentrações de NH_4^+ na solução dos solos próxima às zonas de injeção dos marcadores, bem como o tempo necessário para redução do nitrato nas raízes e o transporte dos aminoácidos na seiva do xilema das árvores de *E. grandis* puderam ter contribuído para retardar o aumento da porcentagem de átomos de ^{15}N nas folhas, quando comparado ao acúmulo de Rb e Sr. A imobilização microbiana do NO_3^- - ^{15}N no solo também poderia explicar parcialmente esse padrão (BENGTSSON; BERGWALL, 2000).

O período de 70 dias pós-injeção foi selecionado para comparar a absorção radicular potencial dos marcadores pelas árvores, pois foi nesse que a porcentagem foliar de átomos de ^{15}N e as concentrações de Rb e de Sr estavam próximas aos valores máximos. Laclau et al. (2009) mostraram, em uma área próxima ao experimento, que folhas marcadas de árvores de *E. grandis* levaram cerca de um mês para expandirem totalmente. No presente estudo, as folhas jovens completamente expandidas coletadas tinham provavelmente entre 1 - 2 meses de idade. A potencial absorção radicular tem sido comumente avaliada até dois meses pós-injeção do

marcador em florestas e em sistemas agroflorestais (ROWE et al., 2001; SOETHE et al., 2006; GÖRANSSON et al., 2008). O deslocamento vertical dos marcadores dentro dos 70 dias pós-injeção foi provavelmente baixo e não deve ter influenciado a comparação da PAR e da PARE com as profundidades. Na região estudada (nos dois tipos de solo), trincheiras até 10 m de profundidade não atingiram o lençol freático (dados não publicados), desta forma a ascensão capilar acima de 3 m de profundidade poderia ser ignorada. O monitoramento da solução do solo sobre a rotação em uma plantação de eucalipto estabelecida em solo arenoso, área esta próxima ao estudo, mostrou que os picos de K^+ e NO_3^- , na solução do solo em 15 cm de profundidade, após a aplicação de fertilizantes, só atingiram 100 cm de profundidade, após 4 - 5 meses, durante a estação chuvosa (LACLAU et al., 2010). Durante os 70 dias pós-injeção, a densidade de raízes finas não mudou drasticamente dentro da possível distância de deslocamento dos marcadores, sendo também improvável que o padrão geral de absorção mostrado pelas raízes seja amplamente modificado pelo deslocamento vertical dos marcadores.

A dinâmica da concentração foliar dos marcadores entre 70 e 230 dias pós-injeção foi interpretada de forma cautelosa. Durante este período, um acúmulo dos marcadores nas folhas pôde resultar da absorção mais profunda do que da profundidade de injeção e dentro de cada árvores os processos fisiológicos também puderam influenciar a dinâmica das concentrações foliares. Em particular, grande retranslocação de N e K (e seus marcadores ^{15}N e Rb) pode ocorrer nas folhas de *Eucalyptus*, sendo insignificante para o Ca (e seu análogo Sr) (FIFE et al., 2008). Apesar da dificuldade em interpretar com precisão a dinâmica da concentração foliar dos marcadores durante longos períodos, o aumento da PAR e da PARE, entre 70 e 230 dias pós-injeção de inverno dos marcadores em 300 cm de profundidade, sugeriu que a absorção radicular nos horizontes profundos dos solos foi significativamente maior quando a água gravitacional chegou nessa profundidade. Um transporte por fluxo de massa dos marcadores às raízes poderia ter aumentado a absorção dos marcadores utilizados no estudo, apesar das diferentes formas de mobilidade no solo.

Ao Injetar grande quantidade dos marcadores próximos das árvores amostradas, foi possível ignorar possíveis problemas na estimação das distribuições de

absorção dos marcadores. Neste estudo, a absorção de nutrientes não foi compensada pelas diferenças na imobilização de NO_3^- - ^{15}N , pela discriminação entre ^{15}N e ^{14}N , pela diluição dos marcadores no solo ou pela sua adsorção às partículas do solo entre as profundidades estudadas. No entanto, na área de estudo, a abundância natural de $\delta^{15}\text{N}$ e as propriedades do solo foram homogêneas em cada tipo de solo até 300 cm de profundidade (Tabela 2.1). Um estudo mineralógico e de isotermas de adsorção de cátions e ânions, em um solo textura média com plantio de *E. grandis*, numa área próxima a do presente estudo, apresentou interações similares entre a fase sólida e a solução ao longo do perfil do solo (MAQUÈRE, 2008). Além disso, a diferenciação entre K^+ e Rb^+ (GÖRANSSON et al., 2008) e entre Ca^{2+} e Sr^{2+} (BLUM et al., 2008) pode ser ignorada, próxima às áreas de injeção, onde as concentrações dos marcadores eram muito maiores do que as concentrações de NO_3^- , K^+ e Ca^{2+} , monitorados na solução dos dois solos estudados até a profundidade de 300 cm (dados não publicados). A influência de processos antagônicos ou sinérgicos (BARBER, 1995; GENENGER et al., 2003; ROTHSTEIN; CREGG, 2005) sobre a absorção dos três marcadores aplicados simultaneamente no mesmo local foi ignorada, devido ao estabelecimento das potenciais absorções para avaliar a relação entre os marcadores e as profundidades, e não os valores absolutos de absorção em uma determinada profundidade. É possível afirmar que as folhas foram o principal destino dos marcadores absorvidos da superfície dos solos, considerando que uma maior proporção dos marcadores foi absorvida em profundidade e transportada para outros componentes das árvores, abaixo da superfície do solo. No entanto, um padrão similar foi observado entre os três marcadores, sendo improvável um grande viés durante a estimativa das taxas de absorção relativa das raízes finas de *E. grandis* com a profundidade.

2.4.2 Especialização funcional das raízes finas de *Eucalyptus grandis*

Na superfície dos solos, a PAR do NO_3^- - ^{15}N foi significativamente maior do que aquela apresentada pelo Rb^+ e Sr^{2+} . Uma diminuição na PAR com a profundidade do solo ocorreu para os três marcadores, porém esta foi mais acentuada para NO_3^- do que para os análogos de K^+ e Ca^{2+} . Em particular, a diminuição da PAR do NO_3^- - ^{15}N

ocorreu mais bruscamente com a profundidade, após a injeção de verão dos marcadores, sendo a PAR pouco afetada pela profundidade de injeção para o Rb^+ e intermediária para o Sr^{2+} (Figura 2.8). Esse comportamento contrastante dos marcadores injetados, simultaneamente no mesmo local, sugeriu uma especialização funcional das raízes finas de *E. grandis* em relação à profundidade do solo. A forte relação entre as distribuições das DRFs e das PARs é comumente observada nas florestas e nos sistemas agroflorestais, estabelecidos em solos tropicais profundos (ROWE et al., 2001; SOETHE et al., 2006), mesmo apresentando diferenças nas taxas de absorção entre as espécies nos horizontes profundos do solo (LEHMANN, 2003). A acentuada diminuição da DRF com a profundidade, encontrada no presente trabalho, é comumente observada no final da rotação de plantações de eucalipto (BOUILLET et al., 2002; MAURICE et al., 2010). A distribuição da PAR mostrou que apenas a densidade de raízes finas não reflete a capacidade de absorção das árvores para determinados nutrientes e que a distribuição vertical da absorção de nutrientes é altamente dependente da dinâmica da água no solo. Como apontado para outras espécies de árvores (GÖRANSSON et al., 2007), os resultados mostraram a necessidade de uma melhor compreensão dos fatores que impulsionam a absorção de nutrientes nos horizontes profundos do solo, para melhorar os atuais modelos de ciclagem de nutrientes, em ecossistemas florestais que usam a distribuição das raízes como critério único para prever a absorção de nutrientes nas diferentes profundidades do solo.

As distribuições da PARE sugeriram uma especialização das raízes finas da superfície dos solos na absorção de NO_3^- e das raízes finas profundas na absorção de Ca^{2+} e K^+ . De acordo com a segunda hipótese deste trabalho, as PAREs do Rb^+ e Sr^{2+} foram significativamente maiores em 300 cm de profundidade do que em 10 cm, enquanto que o oposto ocorreu para o NO_3^- - ^{15}N aplicado simultaneamente nas mesmas posições. Esse padrão, em relação à alta mobilidade do NO_3^- , mostrou que uma sobreposição das zonas de absorção em torno das raízes no solo foi insuficiente para explicar o grande aumento da PARE com a profundidade, observada para os análogos K^+ e Ca^{2+} , quando o conteúdo de água no solo foi suficiente para o transporte de íons por fluxo de massa. Diferenças na DRF entre as profundidades puderam ter influenciado a estimativa da PARE, pois os marcadores foram injetados em maior

proporção para um determinado comprimento de raízes finas nos horizontes profundos do que nos horizontes superficiais. Tal tendência deveria ter sido mais acentuada para o NO_3^- - ^{15}N , altamente móvel, do que para Rb^+ e Sr^{2+} (GÖRANSSON et al., 2008). No entanto, as diferenças da PARE entre as profundidades para um determinado marcador e entre os marcadores para uma determinada profundidade foram grandes neste trabalho e consistente nos dois tipos de solo. Esse padrão geral apoiou fortemente a hipótese da especialização funcional das raízes.

Mais estudos serão necessários para se obter conhecimento sobre os processos envolvidos no funcionamento das raízes finas das árvores de eucalipto. As PAREs foram cerca de duas vezes maiores no solo textura média do que no solo argiloso, para os três marcadores. Este padrão é parcialmente resultado da DRF ter sido 54 % maior no solo textura média em comparação com o solo argiloso. No entanto, o padrão também pôde resultar de diferenças na abundância e na diversidade micorrízica entre os dois solos (dados não mostrados).

Göransson et al. (2007) observaram, em condições padronizadas, que a absorção de NH_4^+ e Rb^+ pelas raízes extraídas de *Quercus robur* diminuiu com o aumento da profundidade do solo, diferentemente para H_2PO_4^- . Outro bioensaio com raízes extraídas mostrou que a diminuição na absorção de Rb^+ com o aumento da profundidade depende da espécie de árvore (GORANSSON et al., 2006). Neste estudo, os autores observaram que a diminuição na absorção ocorreu para o *Q. robur* e não para o *Fagus sylvatica* L. e para a *Picea abies* (L.) Karst. Göransson et al. (2007) sugerem que a evolução das espécies levou a diferenças fisiológicas e funcionais entre as raízes, dependendo da profundidade do solo, onde ambos NH_4^+ e K^+ estão disponíveis, principalmente na superfície do solo no sul da Suécia, enquanto que a disponibilidade de P é geralmente menos dependente da profundidade; e que as taxas de absorção dependente da profundidade ocorreram devido a diferenças morfológicas, tais como a atividade ou o número de transportadores nas membranas das células das raízes.

Estudos fisiológicos que trabalham com a influência da profundidade do solo sobre as características dos transportadores e dos canais das membranas celulares

das raízes são necessários para uma melhor compreensão sobre a especialização funcional das raízes finas (VERY; SENTENAC, 2003).

2.5 Conclusões

As maiores taxas de absorção dos marcadores foram observadas na camada superficial, mas as diferenças na distribuição da PAR dependem do tipo de nutriente e do conteúdo de água no solo. Aquelas raízes que cresceram no horizonte superficial do solo se especializaram na absorção de nitrogênio, já as raízes que cresceram nos horizontes profundos apresentaram maior potencialidade por unidade de comprimento de raiz em absorver os análogos de potássio e cálcio.

A hipótese de uma relação entre a disponibilidade de nutrientes do solo na área natural de florestas de *E. grandis* e a absorção pelas árvores foi suportada pelo presente trabalho. A especialização funcional radicular pode estar envolvida nas altas taxas de crescimento das plantações de *E. grandis* através de uma eficiente absorção de nutrientes em volumes consideráveis de solos altamente intemperizados. Porém, serão necessárias mais pesquisas para se obter conhecimento sobre a influência da profundidade nas mudanças fisiológicas e nas condições micorrízica das raízes finas. Em particular, mereceria mais atenção, a influência do desenvolvimento micorrízico nas raízes em profundidade sobre os padrões diferenciais de absorção de nitrato vs. cátions. Também, deve-se investigar a ocorrência da especialização funcional radicular, dependendo da profundidade do solo, sobre outras espécies de árvores que crescem em seu habitat natural nos solos tropicais de baixa fertilidade.

Referências

ALLEN, S.C.; JOSE, S.; NAIR, P.; BRECKE, B.J.; RAMSEY, C.L. Competition for ¹⁵N-labeled fertilizer in a pecan (*Carya illinoensis* K. Koch)-cotton (*Gossypium hirsutum* L.) alley cropping system in the southern United States. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 263, n. 1, p. 151-164, 2004.

BARBER, S.A. **Soil nutrient bioavailability: a mechanistic approach**. 2nd ed. New York: John Wiley, 1995. 414 p.

- BARRIE, A.; PROSSER, S.J. Automated analysis of light-element stable isotope ratio mass spectrometry. In: BOUTTON, T.W.; YAMASAKI, S. (Ed.). **Mass spectrometry of soils**. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 1-46.
- BATJES, N. **H.ISRIC-WISE harmonized soil global profile dataset (Ver. 3.1)**: report 2008/2. Wageningen: ISRIC, World Soil Information, (with data set). Disponível em: <http://www.isric.org/isric/Webdocs/Docs/ISRIC_Report_2008_02.pdf>. Acesso em: 19 jan. 2011.
- BENGTSSON, G.; BERGWALL, C. Fate of N-15 labelled nitrate and ammonium in a fertilized forest soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Brisbane, v. 32, p. 545–557, 2000.
- BENNETT, J.N.; ANDREW, B.; PRESCOTT, C.E. Vertical fine root distributions of western red cedar, western hemlock, and salal in old-growth cedar-hemlock forests on northern Vancouver Island. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 32, n. 7, p. 1208-1216, 2002.
- BLEBY, T.M.; MCELRONE, A.J.; JACKSON, R.B. Water uptake and hydraulic redistribution across large woody root systems to 20 m depth. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 33, p. 2132–2148, 2010.
- BLUM, J.D.; DASCH, A.A.; HAMBURG, S.P.; YANAI, R.D.; ARTHUR, M.A. Use of foliar Ca/Sr discrimination and Sr-87/Sr-86 ratios to determine soil Ca sources to sugar maple foliage in a northern hardwood forest. **Biogeochemistry**, Heidelberg, v. 87, p. 287–296, 2008.
- BOUILLET, J.-P.; LACLAU, J.-P.; ARNAUD, M.; M'BOU, A.T.; SAINT-ANDRE, L.; JOURDAN, C. Changes with age in the spatial distribution of roots of Eucalyptus clone in Congo: impact on water and nutrient uptake. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 171, n. 1/2, p. 43-57, 2002.
- BOUKCIM, H.; PLASSARD, C. Juvenile nitrogen uptake capacities and root architecture of two open-pollinated families of *Picea abies*. Effects of nitrogen source and ectomycorrhizal symbiosis. **Journal of Plant Physiology**, Rockville, v. 160, n. 10, p. 1211-1218, 2003.
- BRANDTBERG, P.-O.; BENGTSSON, J.; LUNDKVIST, H. Distributions of the capacity to take up nutrients by *Betula spp.* and *Picea abies* in mixed stands. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 198, n. 1/3, p. 193-208, 2004.
- BRASSARD, B.W.; CHEN, H.Y.H.; BERGERON, Y. Influence of environmental variability on root dynamics in northern forests. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Philadelphia, v. 28, n. 3, p. 179, 2009.
- BRUNO, R.D.; DA ROCHA, H.R.; DE FREITAS, H.C.; GOULDEN, M.L.; MILLER, S.D. Soil moisture dynamics in an eastern Amazonian tropical forest. **Hydrological Processes**, Malden, v. 20, n. 12, p. 2477-2489, 2006.

- BURTON, A.; PREGITZER, K.; HENDRICK, R. Relationships between fine root dynamics and nitrogen availability in Michigan northern hardwood forests. **Oecologia**, Berlin, v. 125, n. 3, p. 389-399, 2000.
- BUXBAUM, C.; NOWAK, C.; WHITE, E. Deep subsoil nutrient uptake in potassium-deficient, aggrading *Pinus resinosa* plantation. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 35, n. 8, p. 1978-1983, 2005.
- CANADELL, J.; JACKSON, R.B.; EHLERINGER, J.B.; MOONEY, H.A.; SALA, O.E.; SCHULZE, E.-D. Maximum rooting depth of vegetation types at the global scale. **Oecologia**, Berlin, v. 108, n. 4, p. 583-595, 1996.
- CASPER, B.B.; JACKSON, R.B. Plant competition underground. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 28, p. 545–570, 1997.
- CHRISTINA, M.; LACLAU, J.; GONÇALVES, J.L.M.; JOURDAN, C.; NOUVELLON, Y.; BOUILLET, J.-P. Almost symmetrical vertical growth rates above and below ground in one of the world's most productive forests. **Ecosphere**, v. 2, n. 3, 2011. Disponível em: <<http://www.esajournals.org/doi/pdf/10.1890/ES10-00158.1>>. Acesso em: 04 jul. 2011.
- CONNELL, M.J.; RAISON, R.J.; KHANNA, P.K. Nitrogen mineralization in relation to site history and soil properties for a range of Australian forest soils. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 20, n. 4, p. 213-220, 1995.
- DAMBRINE, E.; LOUBET, M.; VEGA, J.A.; LISSARAGUE, A. Localisation of mineral uptake by roots using Sr isotopes. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 192, n. 1, p. 129-132, 1997.
- DYE, P.J. Response of *Eucalyptus grandis* trees to soil water deficits. **Tree Physiology**, Oxford, v. 16, n. 1/2, p. 233-238, 1996.
- EAMUS, D.; CHEN, X.; KELLEY, G.; HUTLEY, L.B. Root biomass and root fractal analyses of an open *Eucalyptus* forest in a savanna of north Australia. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 50, p. 31–41, 2002.
- EDDY, W.; ZAK, D.; HOLMES, W.; PREGITZER, K. Chronic atmospheric NO₃⁻ deposition does not induce NO₃⁻ use by *Acer saccharum* Marsh. **Ecosystems**, Heidelberg, v. 11, n. 3, p. 469-477, 2008.
- EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Brasília: Embrapa, SPI; CNPS, 2006. 306 p.
- FEIKEMA, P.M.; MORRIS, J.D.; CONNELL, L.D. The water balance and water sources of a *Eucalyptus* plantation over shallow saline groundwater. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 332, n. 1/2, p. 429-449, 2010.

FIFE, D.N.; NAMBIAR, E.K.S.; SAUR, E. Retranslocation of foliar nutrients in evergreen tree species planted in a Mediterranean environment. **Tree Physiology**, Oxford, v. 28, n. 2, p. 187-196, 2008.

GARNETT, T.P.; SHABALA, S.N.; SMETHURST, P.J.; NEWMAN, I.A. Simultaneous measurement of ammonium, nitrate and proton fluxes along the length of eucalypt roots. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 236, n. 1, p. 55-62, 2001.

_____. Kinetics of ammonium and nitrate uptake by eucalypt roots and associated proton fluxes measured using ion selective microelectrodes. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 30, n. 11, p. 1165-1176, 2003.

GENENGER, M.; ZIMMERMANN, S.; FROSSARD, E.; BRUNNER, I. The effects of fertiliser or wood ash on nitrate reductase activity in *Norway spruce* fine roots. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 175, n. 1/3, p. 413-423, 2003.

GÖRANSSON, H.; FRANSSON, A.; JÖNSSON-BELYAZID, U. Do oaks have different strategies for uptake of N, K and P depending on soil depth? **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 297, n. 1, p. 119-125, 2007.

GÖRANSSON, H.; INGERSLEV, M.; WALLANDER, H. The vertical distribution of N and K uptake in relation to root distribution and root uptake capacity in mature *Quercus robur*, *Fagus sylvatica* and *Picea abies* stands. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 306, p. 129-137, 2008.

GÖRANSSON, H.; WALLANDER, H.; INGERSLEV, M.; ROSENGREN, U. Estimating the relative nutrient uptake from different soil depths in *Quercus robur*, *Fagus sylvatica* and *Picea abies*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 286, n. 1/2, p. 87-97, 2006.

HAVLIN, J.L.; BEATON, J.D.; TISDALE, S.L.; NELSON, W.L. **Soil fertility and nutrient management: an introduction to nutrient management**. 7th ed. Upper Saddle River: Pearson Prentice Hall, 2005. 515 p.

JACKSON, R.B.; CANADELL, J.; EHLERINGER, J.R.; MOONEY, H.A.; SALA, O.E.; SCHULZE, E.D. A global analysis of root distributions for terrestrial biomes. **Oecologia**, Berlin, v. 108, p. 389-411, 1996.

JACKSON, R.B.; SCHENK, H.J.; JOBBÁGY, E.G.; CANADELL, J.; COLELLO, G.D.; DICKINSON, R.E.; FIELD, C.B.; FRIEDLINGSTEIN, P.; HEIMANN, M.; HIBBARD, K.; KICKLIGHTER, D.W.; KLEIDON, A.; NEILSON, R.P.; PARTON, W.J.; SALA, O.E.; SYKES, M.T. Belowground consequences of vegetation changes and their treatments in models. **Ecological Applications**, Ithaca, v. 10, n. 2, p. 470-483, 2000.

JOBBÁGY, E.G.; JACKSON, R.B. Groundwater use and salinization with grassland afforestation. **Global Change Biology**, v. 10, n. 8, p. 1299-1312, 2004.

KRISHNASWAMY, J.; RICHTER, D.D. Properties of advanced weathering-stage soils in tropical forests and pastures. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 66, n. 1, p. 244-253, 2002.

LACLAU, J.-P.; BOUILLET, J.-P.; RANGER, J. Spatial localization of roots in a clonal plantation of *Eucalyptus* in Congo. Influence on the ability of the stand to take up water and nutrients. **Tree Physiology**, Oxford, v. 21, p. 129-136, 2001.

LACLAU, J.-P.; ALMEIDA, J.C.R.; GONÇALVES, J.L.M.; SAINT-ANDRÉ, L.; VENTURA, M.; RANGER, J.; MOREIRA, R.M.; NOUVELLON, Y. Influence of nitrogen and potassium fertilization on leaf life span and allocation of above-ground growth in *Eucalyptus* plantations. **Tree Physiology**, Oxford, v. 29, p. 111-124, 2009.

LACLAU, J.-P.; RANGER, J.; GONÇALVES, J.L.M.; MAQUERE, V.; KRUSCHE, A.V.; M'BOU, A.T.; NOUVELLON, Y.; SAINT-ANDRÉ, L.; BOUILLET, J.-P.; PICCOLO, C.M.; DELEPORTE, P. Biogeochemical cycles of nutrients in tropical *Eucalyptus* plantations: Main features shown by intensive monitoring in Congo and Brazil. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 259, n. 9, p. 1771-1785, 2010.

LEHMANN, J. Subsoil root activity in tree-based cropping systems. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 255, n. 1, p. 319-331, 2003.

LEHMANN, J.; MURAOKA, T. Tracer methods to assess nutrient uptake distribution in multistrata agroforestry systems. **Agroforestry Systems**, Dordrecht, v. 53, n. 2, p. 133-140, 2001.

LEHMANN, J.; MURAOKA, T.; ZECH, W. Root activity patterns in an Amazonian agroforest with fruit trees determined by ^{32}P , ^{33}P and ^{15}N applications. **Agroforestry Systems**, Dordrecht, v. 52, n. 3, p. 185-197, 2001.

MAQUÈRE, V.; LACLAU, J.-P.; BERNOUX, M.; SAINT-ANDRÉ, L.; GONÇALVES, J.L.M.; CERRI, C.C.; PICCOLO, M.C.; RANGER, J. Influence of land use (savanna, pasture, *Eucalyptus* plantations) on soil carbon and nitrogen stocks in Brazil. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 59, n. 5, p. 863-877, 2008.

MARKEWITZ, D.; DEVINE, S.; DAVIDSON, E.A.; BRANDO, P.; NEPSTAD, D.C. Soil moisture depletion under simulated drought in the Amazon: impacts on deep root uptake. **New Phytologist**, London, v. 187, n. 3, p. 592-607, 2010.

MAURICE, J.; LACLAU, J.-P.; SCORZONI RE, D.; GONÇALVES, J.L.M.; NOUVELLON, Y.; BOUILLET, J.-P.; STAPE, J.L.; RANGER, J.; BEHLING, M.; CHOPART, J.-L. Fine root isotropy in *Eucalyptus grandis* plantations. Towards the prediction of root length densities from root counts on trench walls. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 334, n. 1/2, p. 261-275, 2010.

- McCULLEY, R.L.; JOBBÁGY, E.G.; POCKMAN, W.T.; JACKSON, R.B. Nutrient uptake as a contributing explanation for deep rooting in arid and semi-arid ecosystems. **Oecologia**, Berlin, v. 141, n. 4, p. 620-628, 2004.
- MILLER, A.; CRAMER, M. Root nitrogen acquisition and assimilation. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 274, n. 1, p. 1-36, 2005.
- MORONI, M.T.; SMETHURST, P.J.; HOLZ, G.K. Indices of soil nitrogen availability in five Tasmanian *Eucalyptus nitens* plantations. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 42, p. 719–725, 2004.
- MULIA, R.; DUPRAZ, C. Unusual fine root distributions of two deciduous tree species in Southern France: what consequences for modelling of tree root dynamics? **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 281, p. 71–85, 2006.
- NADEZHDINA, N.; FERREIRA, M.I.; SILVA, R.; PACHECO, C.A. Seasonal variation of water uptake of a *Quercus suber* tree in central Portugal. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 305, n. 1/2, p. 105-119, 2007.
- NICODEMUS, M.A.; SALIFU, K.F.; JACOBS, D.F. Nitrate reductase activity and nitrogen compounds in xylem exudate of *Juglans nigra* seedlings: relation to nitrogen source and supply. **Trees**, Heidelberg, v. 22, n. 5, p. 685-695, 2008.
- OLIVEIRA, R.S.; BEZERRA, L.; DAVIDSON, E.A.; PINTO, F.; KLINK, C.A.; NEPSTAD, D.C.; MOREIRA, A. Deep root function in soil water dynamics in cerrado savannas of central Brazil. **Functional Ecology**, London, v. 19, n. 4, p. 574-581, 2005.
- POZWA, A.; FERRY, B.; POLLIE, B.; GRIMALDI, C.; CHARLES-DOMINIQUE, P.; LOUBET, M.; DAMBRINE, E. Variations of plant and soil $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ along the slope of a tropical inselberg. **Annals of Forest Science**, Nancy, v. 66, n. 5, p. 13, 2009.
- ROBINSON, N.; HARPER, R.J.; SMETTEM, K.R.J. Soil water depletion by *Eucalyptus* spp. integrated into dryland agricultural systems. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 286, n. 1/2, p. 141-151, 2006.
- ROTHSTEIN, D.E.; CREGG, B.M. Effects of nitrogen form on nutrient uptake and physiology of Fraser fir (*Abies fraseri*). **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 219, n. 1, p. 69-80, 2005.
- ROUPSARD, O.; FERHI, A.; GRANIER, A.; PALLO, F.; DEPOMMIER, D. MALLET, B.; JOLY, H.I.; DREYER, E. Reverse phenology and dry-season water uptake by *Faidherbia albida* (Del.) A. Chev. in an agroforestry parkland of Sudanese west Africa. **Functional Ecology**, London, v. 13, n. 4, p. 460-472, 1999.
- ROWE, E.C.; VAN NOORDWIJK, M.; SUPRAYOGO, D.; CADISCH, G. Variable responses of the depth of tree nitrogen uptake to pruning and competition. **Tree Physiology**, Oxford, v. 26, n. 12, p. 1529-1535, 2006.

ROWE, E.C.; VAN NOORDWIJK, M.; SUPRAYOGO, D.; HAIRIAH, K.; GILLER, K.E.; CADISCH, G. Root distributions partially explain ^{15}N uptake patterns in Gliricidia and Peltophorum hedgerow intercropping systems. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 235, n. 2, p. 167-179, 2001.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide**: statistics. Cary, 2002-2003.

SCHENK, H.J.; JACKSON, R.B. Mapping the global distribution of deep roots in relation to climate and soil characteristics. **Geoderma**, London, v. 126, n. 1/2, p. 129-140, 2005.

SOETHE, N.; LEHMANN, J.; ENGELS, C. The vertical pattern of rooting and nutrient uptake at different altitudes of a south Ecuadorian Montane Forest. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 286, n. 1, p. 287-299, 2006.

STONE, E.L.; KALISZ, P.J. On the maximum extent of tree roots. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 46, n. 1/2, p. 59-102, 1991.

VAN REES, K.C.J.; COMERFORD, N.B. Vertical root distribution and strontium uptake of a slash pine stand on a Florida Spodosol. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 50, p. 1042-1046, 1986.

VERY, A.A.; SENTENAC, H. Molecular mechanisms and regulation of K^+ transport in higher plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 54, p. 575-603, 2003.

3 FLUXO DE AMÔNIO, NITRATO, POTÁSSIO E HIDROGÊNIO EM RAÍZES FINAS DE *Eucalyptus grandis*

Resumo

O Brasil tem se destacado pela alta produtividade e pelo rápido crescimento das plantações florestais, o que desperta grande interesse em relação aos aspectos nutricionais das árvores, principalmente sobre a absorção dos nutrientes. O presente estudo teve por objetivos avaliar em que parte das raízes finas de *Eucalyptus grandis* ocorre a maior absorção de nutrientes e verificar a absorção de NO_3^- , NH_4^+ e K^+ em mudas de *E. grandis*. Para tanto, foram medidos os fluxos de NH_4^+ , NO_3^- , K^+ e H^+ , em soluções de NH_4NO_3 (50 μM) e KNO_3 (50 μM), através de microeletrodos seletivos de íons. Ao longo da raiz, os microeletrodos foram posicionados desde a ponta da raiz (0 cm) até 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 5,0; e 8,0 cm de distância. Os fluxos foram medidos na raiz fina de 4 mudas de *E. grandis* que permaneceram numa solução pré-tratamento menos concentrada (50 μM) e na raiz fina de 4 mudas que permaneceram numa solução pré-tratamento mais concentrada (500 μM). As hipóteses iniciais foram confirmadas: as raízes das mudas de *E. grandis* apresentaram a tendência de absorver mais NH_4^+ e K^+ do que NO_3^- . As diferenças nos perfis de absorção dos diferentes íons ao longo das raízes de *E. grandis* puderam ser resultado das diferenças morfológicas que ocorreram da ponta até 8,0 cm de distância, tais como: maior absorção dos íons entre a zona de diferenciação e alongação celular das raízes e a zona de maturação celular (zona branca até 2,0 cm de distância da ponta); e diminuição da absorção na zona em que as células do córtex começaram a morrer ou já estavam mortas (zona escura entre 2,0 e 8,0 cm de distância da ponta da raiz), comprovando a terceira hipótese. No entanto, é necessário aumentar o número de repetição de plantas a serem analisadas, devido à grande variabilidade apresentada nas análises.

Palavras-chaves: Eucalipto; Microeletrodo; Nitrogênio; Íons; NH_4^+ ; NO_3^- ; K^+ ; H^+ ; Sistema radicular

Abstract

Brazil has stood for its high productivity and fast growth of its forest plantations, that is interesting in relation to the trees nutritional aspect, mainly about the nutrient absorption. The present study had the objective to evaluate in what part of the fine roots of *Eucalyptus grandis* occurs the most part of the nutrient absorption and evaluate the absorption of NO_3^- , NH_4^+ and K^+ in *E. grandis* seedlings. For that it was measured the flow of NH_4^+ , NO_3^- , K^+ and H^+ , in NH_4NO_3 (50 μM) and KNO_3 (50 μM) solutions, through ion selective microelectrodes. Those microelectrodes were placed through the root, at the root tip (0 cm), then 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 3.0; 5.0; e 8.0 cm from the tip of the root. The flow were measured at the fine roots of 4 seedlings of *E. grandis* that remained at a pretreatment solution less concentrated (50 μM) and at the fine root of 4 seedlings that remained at a pretreatment solution more concentrated (500 μM). The initial hypothesis were confirmed: the roots of *E. grandis* seedlings presented the tendency of absorb more NH_4^+ and K^+ rather than de NO_3^- . The differences at the ion

absorption profile through the root of *E. grandis* can be result from the morphological differences that occur at the tip until 8.0 cm of distance, such as: more ion absorption between the differentiation zone, root cellular elongation and cellular maturation zone (white zone until 2.0 cm from the tip), and less absorption at the zone where the cortex cells start to die or are already dead (dark zone between 2.0 and 8.0 cm of distance from the tip), that proves the third hypothesis. However, is necessary to increase the number of the plants repetition to be analyzed, due it's great variability presented at the analysis.

Keywords: Eucalypt; Microelectrodes; Nitrogen; Íon; NH_4^+ ; NO_3^- ; K^+ ; H^+ ; Radicular system

3.1 Introdução

A alta produtividade e o rápido crescimento das plantações florestais, no Brasil, têm despertado grande interesse em relação aos aspectos nutricionais das árvores plantadas. Um desses aspectos trata-se da absorção de nitrogênio e de potássio pelas raízes de algumas espécies, principalmente aquelas pertencentes ao gênero *Eucalyptus*. Alguns trabalhos mostraram que determinadas espécies de eucalipto preferem o NH_4^+ como forma principal de absorção de nitrogênio (GARNETT et al., 2001, 2003; WARREN; ADAMS, 2007). A absorção do K^+ tem sido menos estudada do que a absorção de NO_3^- para espécies florestais, tornando-se necessária a realização de medições de fluxos de K^+ , ao longo das raízes das árvores, para melhor compreensão da absorção deste íon (PLASSARD et al., 2002). Considera-se assim, que os fluxos de diferentes nutrientes podem variar ao longo da superfície da raiz e a medição simultânea desses fluxos, em diferentes pontos da raiz, permite testar a variabilidade da distribuição espacial (GARNETT et al., 2003).

Em estudos de absorção iônica, o uso de microeletrôdos, permite uma medição precisa dos fluxos de íons na superfície das raízes (NEWMAN et al., 1987; SHABALA et al., 1997). Algumas pesquisas usando microeletrôdos, mostraram padrões consistentes nos fluxos de íons, ao longo da superfície da raiz (PLASSARD et al., 2002), enquanto outras não mostraram qualquer padrão (GARNETT et al., 2001). Newman et al. (1987) observaram em raízes de milho grande variação dos fluxos de K^+ e de H^+ com o tempo na mesma posição. Na pesquisa realizada por Ryan et al. (1990),

nas raízes de milho, os fluxos de K^+ , Ca^{2+} e H^+ variaram constantemente durante as medições. Colmer e Bloom (1998) mostraram em raízes de milho que os fluxos de NH_4^+ e NO_3^- não possuíram tendências consistentes de variação ao longo da raiz. No mesmo estudo, as raízes do arroz apresentaram diminuição dos fluxos NH_4^+ e NO_3^- com o aumento da distância da ponta da raiz.

Raízes jovens de *Pinus* e *Eucalyptus* foram divididas em zonas anatomicamente distintas, as quais mostraram variação na estrutura e nas características corticais (McKENZIE; PETERSON, 1995; ENSTONE et al., 2001). O córtex vivo da ponta da raiz desses gêneros foi caracterizado por uma coloração branca, semelhante às raízes de plantas herbáceas (ENSTONE et al., 2001). Após a parte branca, as células do córtex começaram a morrer e as paredes celulares tornaram-se escuras pelo acúmulo de tanino (ENSTONE et al., 2001). Nas regiões mais velhas da raiz, devido a um crescimento secundário, forma-se um anel contínuo de células mortas (ENSTONE et al., 2001). O status da formação do córtex da endoderme das raízes jovens influenciou a permeabilidade aos nutrientes (HAWKINS; PLASSARD, 2008).

Desta forma, este trabalho teve por objetivos: 1) avaliar em que parte das raízes finas de *Eucalyptus grandis* ocorre a maior absorção de nutrientes e 2) avaliar a absorção de NO_3^- , NH_4^+ e K^+ em mudas de *E. grandis*. As hipóteses testadas foram: 1) maior absorção de NH_4^+ do que NO_3^- pelas mudas de *E. grandis*; 2) maior absorção de K^+ em relação ao NO_3^- ; e 3) maior absorção de nutrientes na zona de divisão e alongação celular das raízes finas de *E. grandis*.

3.2 Material e método

3.2.1 Produção de mudas

Este estudo foi desenvolvido na Unidade Mista de Pesquisa UMR Eco&Sols (INRA-IRDSupAgro) – Montpellier / França, de Outubro de 2009 a Fevereiro de 2010. As mudas de *Eucalyptus grandis* cresceram em seringas de 50 ml com pequenos orifícios na base, permitindo a ascensão da solução nutritiva por capilaridade (Figura 3.1). As mudas desenvolveram-se em uma câmara de cultura, sob condições

controladas de crescimento ($300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luminosidade, fotoperíodo de 16 h, umidade de 80 % e temperatura de $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$). As seringas foram preenchidas com 20 % de pequenos seixos rolados e 80 % de quartzo (Figura 3.1). A solução nutritiva utilizada para o crescimento das mudas foi semelhante aquela apresentada por Garnett et al. (2001), composta por (μM): NH_4Cl (338); KNO_3 (50,7); KH_2PO_4 (40); MgSO_4 (42); $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (21,1); $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,88); H_3BO_3 (2,23); $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,06); $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,06); $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,01) e FeNaEDTA (21). A solução nutritiva foi substituída a cada 5 dias. As mudas foram analisadas quando apresentaram 2 pares de folhas jovens e comprimento de raízes superior a 8 cm.

Ao atingir o tamanho ideal, as mudas de *Eucalyptus grandis* foram cuidadosamente retiradas das seringas com quartzo e transferidas para tubos de vidro, contendo solução pré-tratamento borbulhada com ar. Foram colocadas 4 mudas numa solução pré-tratamento menos concentrada, a qual continha (μM): KNO_3 (50) + K_2HPO_4 (25) + CaSO_4 (200). Outras 4 mudas foram colocadas numa solução pré-tratamento mais concentrada, a qual continha (μM): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (250) + KNO_3 (500) + K_2HPO_4 (25) + CaSO_4 (200). Todas as mudas permaneceram nas soluções pré-tratamento por 3 dias antes da análise dos fluxos de íons.



Figura 3.1 - Produção de mudas de *Eucalyptus grandis* em câmara de cultura

3.2.2 Medição dos fluxos de íons

Os fluxos de H^+ , NH_4^+ , NO_3^- e K^+ foram medidos simultaneamente através de microeletródos de medição de fluxos de íons, conforme descrito no trabalho de Garnett et al. (2001) e Gobert e Plassard (2009) (Figura 3.2). O fluxo para cada íon ($nmol\ m^{-2}\ s^{-1}$) foi calculado conforme eq. (3.1).

$$J_x = K u_x C_x (V_2 - V_1) / r \ln (R_2 / R_1) \quad (3.1)$$

sendo J_x o fluxo líquido do íon x ; K um coeficiente de conversão de unidades para expressar J_x em $\text{nmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; u_x a mobilidade iônica do íon x ; V_1 e V_2 os potenciais elétricos (mV) do microeletrodo seletivo de íon nas posições 1 (10 μm de distância da superfície da raiz) e na posição 2 (600 μm de distância da superfície da raiz); r o raio da raiz (μm); R_1 e R_2 os raios das duas posições de medição (μm).

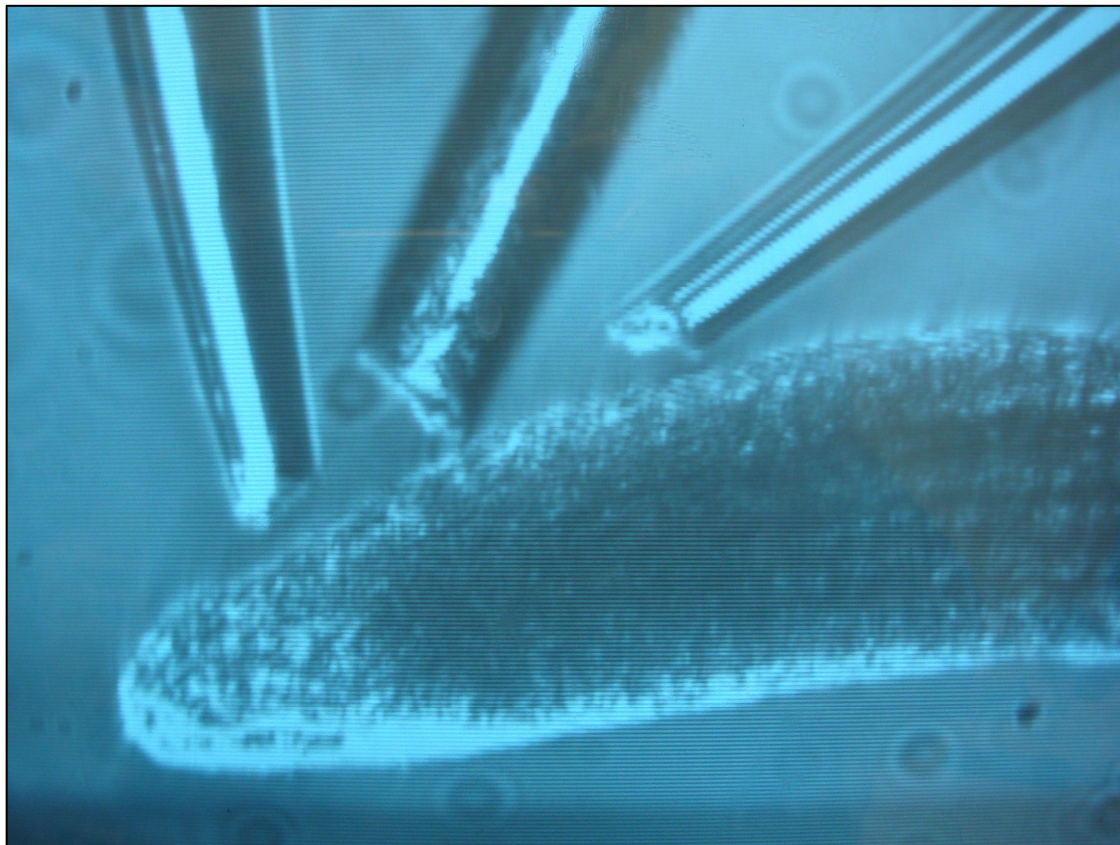


Figura 3.2 - Microeletrodos posicionados próximo a superfície da raiz

A metodologia de fabricação dos microeletrodos foi a mesma descrita no trabalho de Gobert e Plassard (2009). Os microeletrodos foram produzidos através de capilares de vidro de borossilicato (Figura 3.3). Eles foram secos em estufa a 180 °C por 4 h, sendo aplicado após este tempo, os silicones de tributylchlorosilane (microeletrodos de H^+ , NH_4^+ e NO_3^-) ou N, N - dimethyltrimethylsilylamine (microeletrodo de K^+). Os microeletrodos foram colocados novamente na estufa a 130 °C por mais 1 h para a fixação do silicone.

Após resfriados, a ponta dos microeletrodos foi preenchida com coquitéis seletivos de íons: H^+ (Fluka, ref. 95297); NH_4^+ (Fluka 09882); NO_3^- , composto por methyltridodecylammoniumnitrate 0,5, % (MTDDA), methyltriphenylphosphonium bromide 0,084 % (MTPPB) e n-phenyloctylether 99,4 % (NPOE) (PLASSARD et al. 2002); e K^+ (Fluka, ref. 60398).

Injetados os coquitéis, o microeletrodo de NH_4^+ foi preenchido com uma solução de NH_4Cl 200 mM; o microeletrodo de NO_3^- foi preenchido com uma solução de KNO_3 500 mM + KCl 100 mM; o microeletrodo de K^+ foi preenchido com uma solução de KCl 200 mM; e o microeletrodo de H^+ foi preenchido com uma solução de $NaCl$ 15 mM + KH_2PO_4 40 mM (pH ajustado para 6,0 utilizando $NaOH$ 0,1 M).



Figura 3.3 - Microeletrodo seletivo de íons

Para as medições de fluxos em solução de NH_4NO_3 (50 μM) + $CaSO_4$ (200 μM), os microeletrodos de NH_4^+ e NO_3^- foram calibrados em solução de NH_4NO_3 (50 μM) + $CaSO_4$ (200 μM) e solução de NH_4NO_3 (500 μM) + $CaSO_4$ (200 μM). Já para as

medições em solução de KNO_3 (50 μM) + CaSO_4 (200 μM), os microeletrodos de K^+ e NO_3^- foram calibrados em solução de KNO_3 (50 μM) + CaSO_4 (200 μM) e em solução de KNO_3 (500 μM) + CaSO_4 (200 μM). Uma diferença mínima de 54 - 59 mV, nas medições entre as soluções menos e mais concentradas, era importante. O microeletrodo de H^+ foi calibrado em soluções padrão de pH 4 e 7, sendo necessária uma diferença mínima de 162 - 177 mV para o H^+ entre as soluções padrão. Um medidor de pH, contendo uma solução de KCl 3M como macroeletrodo de referência, foi utilizado. Este macroeletrodo é importante, pois proporciona uma ponte salina, a qual viabiliza as medições.

Os fluxos foram medidos desde a ponta da raiz (0 cm) até 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 5,0; e 8,0 cm de distância (Figura 3.4). Segundo Taylor e Peterson (2000), em raízes de coníferas, a posição 0,5 cm da ponta da raiz corresponde a uma região entre as zonas de alongação e maturação celular; as posições 1 e 2 cm da ponta da raiz correspondem à zona branca de maturação; e na região escurecida entre 3 e 8 cm da ponta da raiz surgem raízes laterais.

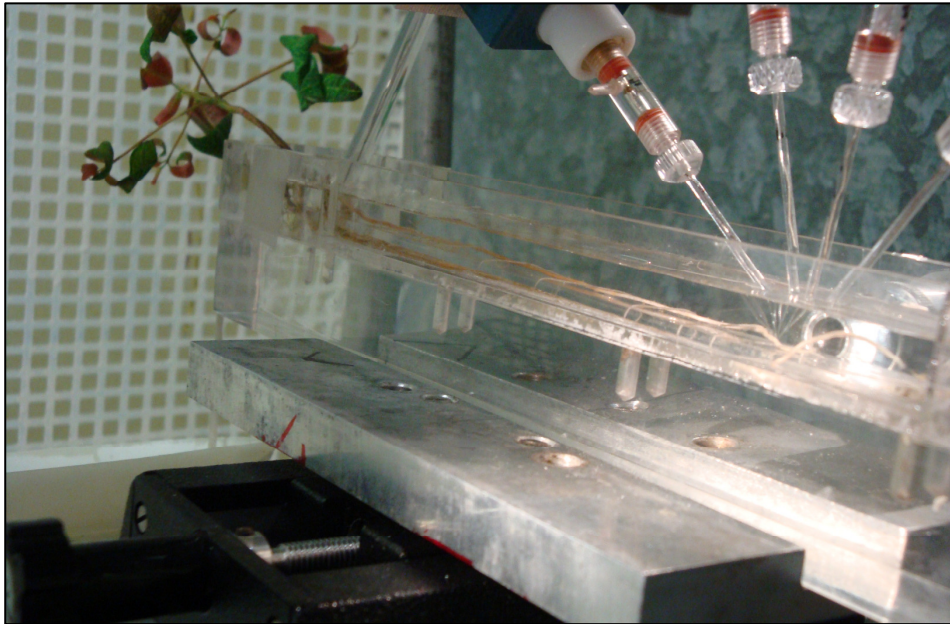


Figura 3.4 - Esquema das posições dos microeletrodos na raiz de *Eucalyptus grandis*

3.2.3 Análise estatística

Na análise estatística dos dados foi utilizado o procedimento GLM do SAS 6.11 (SAS Institute, Cary, NC, EUA). A homogeneidade das variâncias foi testada através do teste de Levene; e a distribuição normal dos resíduos, através do teste de Kolmogorov–Smirnov. O teste de Bonferroni foi utilizado para as comparações múltiplas com nível de significância de 0,05.

3.3 Resultados

A elevada variação na distribuição dos dados não permitiu a observação de efeitos significativos quanto a diferenças entre a absorção de NH_4^+ , NO_3^- e K^+ (Figura 3.5). Em alguns pontos da raiz das mudas na solução de análise de NH_4NO_3 (50 μM), ocorreram efeitos significativos entre a absorção de NH_4^+ e o efluxo de H^+ (Figura 3.5 a, c). Na solução pré-tratamento de 50 μM (Figura 3.5 a), os efeitos significativos entre os fluxos de NH_4^+ e H^+ foram observados na ponta da raiz (0 cm) ($F = 9,2$; $P = 0,007$); a 0,5 cm da ponta da raiz ($F = 7,8$; $P = 0,01$); a 1,0 cm da ponta da raiz ($F = 6,4$; $P = 0,02$); e a 5,0 cm da ponta da raiz ($F = 5,7$; $P = 0,03$). Na solução pré-tratamento de 500

μM (Figura 3.5 c), os efeitos significativos entre os fluxos de NH_4^+ e de H^+ ocorreram na ponta da raiz ($F = 6,7$; $P = 0,02$) e a 5,0 cm da ponta da raiz ($F = 8,3$; $P = 0,01$). Na solução de análise de KNO_3 ($50 \mu\text{M}$) não ocorreram efeitos significativos entre os fluxos de NO_3^- e de H^+ para as mudas que permaneceram na solução pré-tratamento de $50 \mu\text{M}$ (Figura 3.5 b). No entanto, observaram-se efeitos significativos entre os fluxos de NO_3^- e de H^+ em alguns pontos da raiz das mudas que permaneceram na solução pré-tratamento de $500 \mu\text{M}$ (Figura 3.5 d). Estes efeitos significativos foram observados a 1,0 cm da ponta da raiz ($F = 5,4$; $P = 0,03$); a 3,0 cm da ponta da raiz ($F = 6,0$; $P = 0,03$); e a 8,0 cm da ponta da raiz ($F = 4,9$; $P = 0,04$).

Observou-se uma forte tendência de que a região das raízes de *Eucalyptus grandis* com maior absorção de nutrientes seja aquela localizada entre a ponta até 2 cm de distância.

Independente da concentração da solução pré-tratamento, na solução de análise de NH_4NO_3 ($50 \mu\text{M}$), observou-se maior absorção de NH_4^+ do que de NO_3^- pelas mudas (Figura 3.5 a, c). Aquelas mudas que permaneceram na solução pré-tratamento de $50 \mu\text{M}$ (Figura 3.5 a) apresentaram maior absorção de NH_4^+ e de NO_3^- do que as mudas que permaneceram na solução pré-tratamento de $500 \mu\text{M}$ (Figura 3.5 c).

Na solução de análise de KNO_3 ($50 \mu\text{M}$), as mudas da solução pré-tratamento de $50 \mu\text{M}$ apresentaram uma tendência de maior absorção de K^+ do que de NO_3^- (Figura 3.5 b). Nas mudas da solução pré-tratamento de $500 \mu\text{M}$, a absorção de K^+ e de NO_3^- foi semelhante (Figura 3.5 d). Nas mudas da solução pré-tratamento de $50 \mu\text{M}$, a absorção de K^+ e de NO_3^- (Figura 3.5 b) foi maior do que a absorção das mudas que permaneceram na solução pré-tratamento de $500 \mu\text{M}$ (Figura 3.5 d).

Nas mudas da solução pré-tratamento de $50 \mu\text{M}$, apesar de a diferença não ser significativa, observou-se uma menor absorção de NH_4^+ do que de K^+ , (Figura 3.5 a, b). Em média, a absorção de NH_4^+ foi de $22 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e a absorção de K^+ , de $32 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Somando-se as taxas médias de absorção em todos os pontos medidos com os microeletrôdos, a absorção média acumulada do NH_4^+ foi na ordem de $176 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e a do K^+ de $254 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Para as mudas que permaneceram na solução pré-tratamento de $500 \mu\text{M}$, observou-se maior absorção de NH_4^+ do que de K^+ ,

sendo $16 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (média acumulada de $130 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e $5 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (média acumulada de $36 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), respectivamente (Figura 3.5 c, d).

Observou-se a tendência do NO_3^- ser menos absorvido na presença do NH_4^+ do que na presença do K^+ (Figura 3.5 a, b). Em média, a absorção do NO_3^- foi de $13 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (absorção média acumulada de $105 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) na presença do NH_4^+ e de $20 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (absorção média acumulada de $162 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) na presença do K^+ .

Para as mudas que permaneceram na solução pré-tratamento de $50 \mu\text{M}$ (Figura 3.5 a, b), o efluxo de H^+ foi praticamente constante em todas as partes das raízes, com média de $-5,7 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ na solução de análise de NH_4NO_3 ($50 \mu\text{M}$) (Figura 3.5 a) e média de $-1,4 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ na solução de análise de KNO_3 ($50 \mu\text{M}$) (Figura 3.5 b). Nas mudas que permaneceram na solução pré-tratamento de $500 \mu\text{M}$, observou-se um maior efluxo de H^+ até 1 cm de distância da ponta da raiz (Figura 3.5 c, d). Nesta zona, o maior efluxo médio de H^+ foi de $-15,4 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ na solução de análise de NH_4NO_3 ($50 \mu\text{M}$) (Figura 3.5 c) e de $-26,0 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ na solução de análise de KNO_3 ($50 \mu\text{M}$) (Figura 3.5 d).

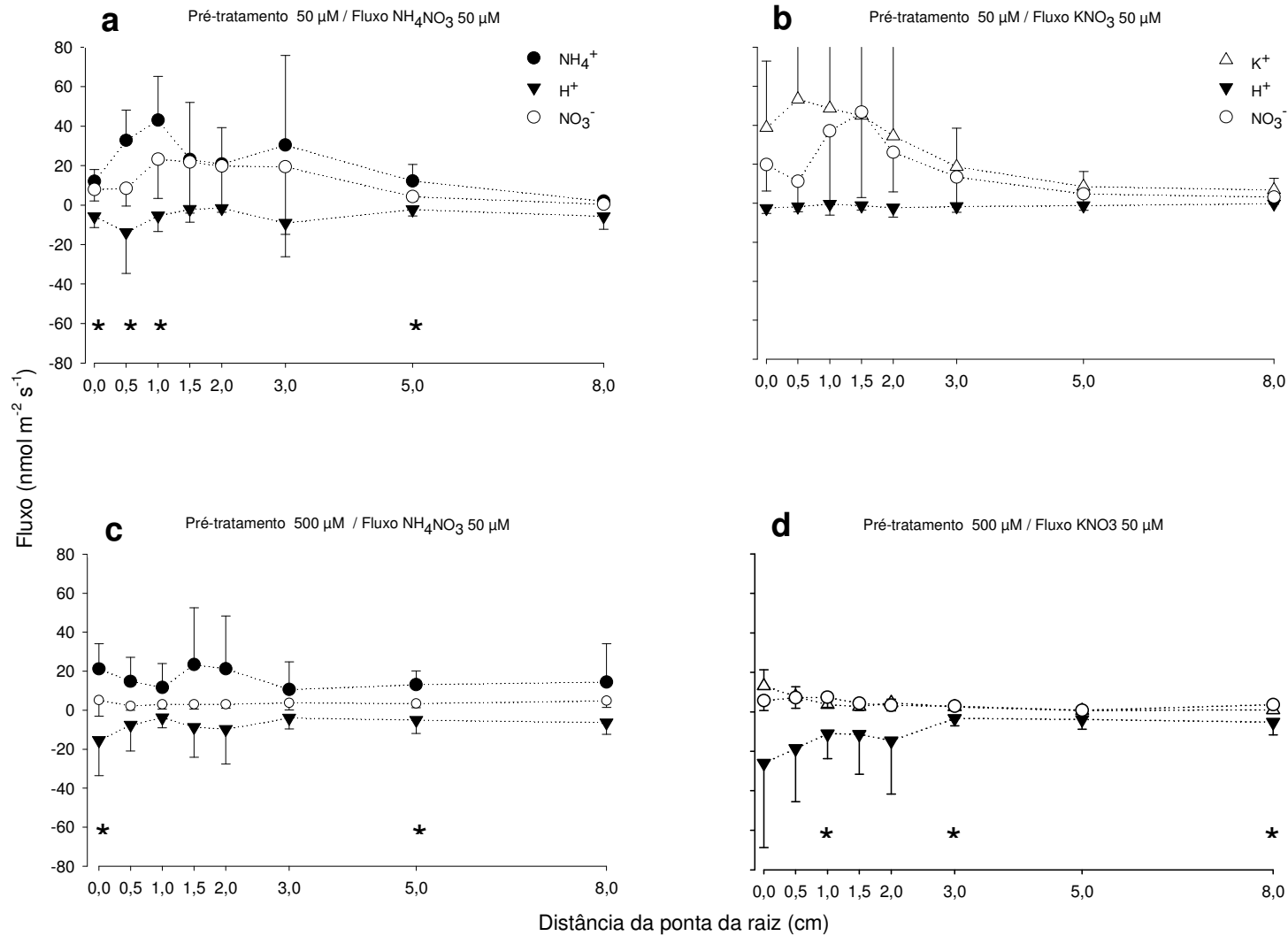


Figura 3.5 - a) fluxo de NH_4^+ , NO_3^- e H^+ / solução de fluxo de NH_4NO_3 (50 μM) / solução pré-tratamento 50 μM ; b) fluxo de K^+ , NO_3^- e H^+ / solução de fluxo de KNO_3 (50 μM) / solução pré-tratamento 50 μM ; c) fluxo de NH_4^+ , NO_3^- e H^+ / solução de fluxo de NH_4NO_3 (50 μM) / solução pré-tratamento 500 μM e d) fluxo de K^+ , NO_3^- e H^+ / solução de fluxo de KNO_3 (50 μM) / solução pré-tratamento 500 μM . Os desvios padrões estão indicados para cada nutriente ($n = 4$). * significa efeito significativo entre os fluxos de NH_4^+ ou NO_3^- e o efluxo de H^+

3.4 Discussão

3.4.1 Variação dos fluxos de NH_4^+ , NO_3^- e K^+ ao longo da raiz

Durante as medições simultâneas da absorção de NH_4^+ e NO_3^- pelas mudas de *Eucalyptus grandis*, foram observados valores médios máximos de $43 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para NH_4^+ e $23 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para o NO_3^- . Estes valores de absorção foram coerentes com os valores apresentados no trabalho de Garnett et al. (2003) para *Eucalyptus nitens*. Nesse, os autores observaram na solução de análise de $50 \text{ }\mu\text{M}$, valores de absorção em torno de $50 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para o NH_4^+ e $35 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para o NO_3^- . Hawkins e Plassard (2008) compararam a absorção de NH_4^+ e de NO_3^- pelas mudas de *Pseudotsuga menziesii* e *Pinus contorta*. Estes autores observaram, para ambas as espécies, que a absorção de NO_3^- foi maior do que a absorção de NH_4^+ . Para as mudas de *Pseudotsuga menziesii* a absorção média de NO_3^- foi de $18,5 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ enquanto que a absorção média de NH_4^+ foi de $11,3 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Nas mudas de *Pinus contorta*, a absorção média de NO_3^- foi de $10,7 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e absorção média de NH_4^+ foi de $8,4 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Outros estudos de absorção de nitrogênio mostraram maiores taxas de absorção de NH_4^+ do que de NO_3^- para *Pseudotsuga menziesii* e *Pinus contorta* (KAMMINGA-VAN WIJK; PRINS, 1993; MIN et al., 2000); *Pinus sylvestris* (BOXMAN; ROELOFS, 1988); *Pinus pinaster* (SCHEROMM; PLASSARD, 1988); *Picea abies* (MARSCHNER et al., 1991); e *Pinus glauca* (KRONZUCKER et al., 1995, 1996).

Plassard et al. (2002) observaram em *Pinus pinaster* que a absorção de NO_3^- não ultrapassou $0,13 \text{ }\mu\text{mol h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de raiz e a absorção de K^+ não ultrapassou $0,15 \text{ }\mu\text{mol h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de raiz. De forma diferente no presente trabalho, a absorção de K^+ pelas mudas de *Eucalyptus grandis* foi maior (média $32 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) do que a absorção de NO_3^- (média $13 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). A absorção de NH_4^+ foi menor (média $22 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) do que a absorção de K^+ (média $32 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). A maior absorção de K^+ em relação ao NO_3^- e ao NH_4^+ pelas mudas de *Eucalyptus grandis* pôde ter ocorrido pela alta permeabilidade das células das raízes em relação ao K^+ (MENGEL; KIRKBY, 2001). Em relação ao NH_4^+ e ao NO_3^- , a forma preferencial de absorção de nitrogênio pelo

Eucalyptus é o NH_4^+ , já que o NO_3^- precisa ser metabolizado nas raízes para ser absorvido e transportado (WARREN; ADAMS, 2007).

Observou-se, tanto para o NO_3^- quanto para o NH_4^+ e o K^+ , que é na ponta das raízes das mudas de *Eucalyptus grandis* que ocorre a maior absorção dos nutrientes. Esta região foi caracterizada por uma coloração branca e localizou-se da ponta até 2 cm de distância. Ao afastar da ponta da raiz, notou-se um escurecimento e uma redução na absorção. Isto ocorreu, provavelmente, devido a um progressivo aumento da espessura do córtex, causado pela maior quantidade de células mortas, o que pode ter contribuído para o declínio dos fluxos (PLASSARD et al., 2002). Ao longo da raiz, após a zona branca, observou-se uma zona escurecida de coloração amarela, que ocupou grande parte do comprimento da raiz (TAYLOR; PETERSON, 2000). Esta zona amarela possui um córtex que está morrendo ou já está morto (MCKENZIE; PETERSON, 1995), o que provavelmente reduziu o potencial de absorção (ENSTONE et al., 2001).

Resultados semelhantes foram encontrados por Hawkins e Plassard (2008) para árvores de *Pseudotsuga menziesii* e *Pinus contorta*. Os autores observaram para ambas as espécies que os maiores fluxos de NH_4^+ , NO_3^- e H^+ ocorreram na zona de coloração branca das raízes, entre 0,5 e 2 cm da ponta da raiz. Em mudas de *Pinus taeda*, a zona branca estendeu entre 3,6 e 5,6 cm da ponta da raiz (ENSTONE et al., 2001). Segundo os autores, a pequena espessura do córtex desta zona contribuiu para o movimento dos íons no simplasto. No *Pinus taeda*, as lamelas de suberina, nas primeiras bandas de Caspari, apareceram pela primeira vez entre 1 - 2 cm da ponta das raízes, o que restringe a absorção de água e de íons, porém o espaço entre as células ao longo desta zona permitiu a absorção dos íons. Plassard et al. (2002) observaram em mudas *Pinus pinaster* que a maior absorção de NO_3^- e K^+ ocorreu entre 2 e 5 cm de distância da ponta da raiz. Em distâncias maiores que 5 cm, as células vivas do córtex mantiveram os mesmos potenciais da membrana do que as células da ponta da raiz, sugerindo que essas células puderam ainda participar da absorção de nutrientes.

Em algumas culturas agrícolas como o arroz, a absorção de NH_4^+ foi mais alta na ponta da raiz, diminuindo rapidamente após 0,5 cm de distância (COLMER; BLOOM, 1998). Semelhante ao observado no *Eucalyptus grandis*, a maior absorção

NO_3^- pelo arroz ocorreu na região entre 0,5 e 2,0 cm da ponta da raiz (COLMER; BLOOM, 1998). Para a cevada, a absorção de NO_3^- aumentou até 6 cm de distância da ponta da raiz, enquanto que a maior absorção de NH_4^+ ocorreu entre 1 e 2 cm (HENRIKSEN et al., 1992). Para o milho, a absorção de NO_3^- foi mais alta entre 0,5 e 5 cm da ponta da raiz, entretanto a maior absorção de NH_4^+ ocorreu na ponta da raiz, diminuindo após 0,5 cm de distância, voltando a aumentar depois de 6 cm (TAYLOR; BLOOM, 1998).

3.4.2 Variação do fluxo de H^+ ao longo da raiz

A observação de diferenças significativas entre os fluxos de N (NH_4^+ e NO_3^-) e de H^+ , segundo Garnett et al. (2001), pode estar relacionada aos processos de absorção e assimilação desses nutrientes pelas plantas. Supõe-se assim que, nos pontos da raiz em que se observaram diferenças significativas entre os fluxos de NH_4^+ e H^+ , a absorção de NH_4^+ tenha sido responsável pelo aumento do efluxo de H^+ . O efluxo de H^+ corresponderia ao transporte ativo de prótons para manter o equilíbrio de carga nas células, após a absorção e assimilação de NH_4^+ (GARNETT et al., 2001, 2003). Nestes pontos, a diferença não significativa entre os fluxos de NO_3^- e de H^+ poderia ser explicada pelo efluxo de H^+ estar ligado à maior absorção de NH_4^+ (TAYLOR; BLOOM, 1998; GARNETT et al., 2001). Como o fluxo de NH_4^+ e NO_3^- foram medidos ao mesmo tempo e no mesmo ponto da raiz, observou-se a tendência de menor absorção de NO_3^- , na presença de NH_4^+ . Na sua ausência, ao medir o fluxo de NO_3^- e de K^+ , a tendência de maior absorção de NO_3^- ocorreu devido a não competição com o NH_4^+ .

Semelhante ao observado por Garnett et al. (2001) para o *Eucalyptus nitens*, nas mudas de *Eucalyptus grandis* que permaneceram na solução pré-tratamento de 50 μM não foram observados padrões significativos de efluxo de H^+ ao longo das raízes. Já nas mudas que permaneceram na solução pré-tratamento de 500 μM , observou-se maior efluxo de H^+ da ponta da raiz até 1 cm de distância. Apesar da maior concentração da solução pré-tratamento, este resultado foi semelhante ao obtido no trabalho de Hawkins e Plassard (2008), no qual os autores observaram que o efluxo de H^+ , ao longo das raízes de *Pseudotsuga menziesii* e *Pinus contorta*, foi maior da ponta da raiz até 2 - 4 cm de distância, permanecendo constante até 8 cm de distância.

Plassard et al. (1999) observaram que o efluxo de H^+ medido em raízes de milho foi maior entre 2 - 3 cm de distância da ponta da raiz, seguida por uma região de baixo efluxo de H^+ .

Bloom et al. (2003) observaram que as raízes mantêm um ambiente ácido no seu entorno devido a expansão da parede celular na zona de alongação da raiz. Segundo os autores, em raízes de espécies de crescimento lento, como as coníferas, a expansão da parede celular pode ocorrer em uma região mais perto da ponta da raiz do que em raízes de espécies com rápido crescimento, como as de eucalipto. Outros estudos mostraram que o maior efluxo de H^+ na zona subapical ocorre em resposta a vários tipos de estresse ambiental (HINSINGER et al., 2003).

3.4.3 Efeito da solução pré-tratamento

As mudas de *Eucalyptus grandis* que foram colocadas na solução pré-tratamento de 500 μM apresentaram menor absorção de nutrientes quando comparadas as mudas que permaneceram na solução pré-tratamento de 50 μM . Estes resultados mostraram que quando as plantas permaneceram em uma solução com abundância de nutrientes, durante as análises através dos microeletródos seletivos de íons, estas tenderam a apresentar menor absorção de nutrientes.

Hawkins e Plassard (2008) observaram que o influxo de nitrogênio foi maior nas mudas *Pseudotsuga menziesii* e *Pinus contorta* que não receberam nitrogênio na solução pré-tratamento. Um padrão similar foi observado para influxo de NH_4^+ em mudas de *Picea glauca* que foram submetidas a uma solução pré-tratamento bem pobre em nutrientes (KRONZUCKER et al., 1996). Os autores observaram ainda, para a mesma espécie, que o aumento na absorção de NO_3^- durou por no máximo três dias de exposição à solução de análise, diminuindo em seguida (KRONZUCKER et al., 1995).

Para Gobert e Plassard (2002), a indução completa dos transportadores de NO_3^- em *Pinus pinaster* também levou cerca de três dias. Glass (2003) propôs que a diminuição na absorção de nitrogênio, ao longo do tempo, ocorreu devido à baixa regulação da transcrição de genes que codificam os transportadores no HATS (High Affinity Transport System – Sistema de Transporte de Alta Afinidade) para o NO_3^- e NH_4^+ , provocado pelo acúmulo de glutamina nas células da raiz.

A retenção de K^+ na célula depende principalmente do seu potencial negativo (absorção passiva). Essa absorção passiva de K^+ é comandada pela atividade da ATPase (MARSCHNER, 1995). A diminuição da absorção de K^+ , nas mudas que permaneceram na solução pré-tratamento de 500 μM , quando estas foram colocadas na solução de KNO_3 de 50 μM , pôde ter ocorrido devido ao acúmulo de K^+ e inibição da ATPase nas células das raízes das mudas de *Eucalyptus grandis*, enquanto estas permaneceram na solução mais rica em nutrientes.

3.5 Conclusões

Este estudo mostrou que a maior absorção de NH_4^+ , K^+ e NO_3^- ocorreu nas mudas que permaneceram na solução pré-tratamento de 50 μM . Padrões distintos de absorção de NH_4^+ , K^+ e NO_3^- foram observados ao longo do comprimento das raízes das mudas de *Eucalyptus grandis*, desde a ponta da raiz até 8 cm de distância. As alterações nos perfis de absorção dos diferentes íons, ao longo das raízes de *E. grandis*, podem ser resultado das diferenças morfológicas que ocorreram da ponta até 8 cm de distância, tais como: maior absorção dos íons entre a zona de diferenciação e alongação celular das raízes e a zona de maturação celular (zona branca até 2 cm de distância da ponta da raiz); e diminuição da absorção na zona em que as células do córtex começam a morrer ou já estão mortas (zona escura entre 2 e 8 cm de distância da ponta da raiz).

As raízes das mudas de *E. grandis* apresentaram tendência de absorver mais NH_4^+ e K^+ a NO_3^- . Isto pode ter ocorrido devido às células das raízes de *E. grandis* serem mais permeáveis ao K^+ . O efeito significativo apresentado entre a absorção de NH_4^+ e o efluxo de H^+ comprova que a forma preferencial de nitrogênio pelo *E. grandis* é o NH_4^+ . Quando o NH_4^+ não estava presente, ou seja, quando foi fornecido às mudas K^+ e NO_3^- , a absorção de NO_3^- foi superior do que quando foi fornecido NH_4^+ e NO_3^- . Não foi observada diferença quanto ao perfil do efluxo de H^+ , ao longo das raízes das mudas que permaneceram na solução pré-tratamento de 50 μM . De forma diferente, as mudas que permaneceram na solução pré-tratamento de 500 μM apresentaram maior efluxo de H^+ entre a ponta da raiz e 1 cm de distância.

Os resultados demonstram grande variabilidade dos dados. Portanto, faz-se necessário aumentar o número de repetição de plantas a serem analisadas, para que as diferenças entre as zonas de absorção e as diferenças entre a absorção dos íons sejam significativas.

Referências

BLOOM, A.J.; MEYERHOFF, P.A.; TAYLOR, A.R.; ROST, T.L. Root development and absorption of ammonium and nitrate from the rhizosphere. **Journal of Plant Growth Regulation**, Heidelberg, v. 21, n. 4, p. 416-431, 2003.

BOXMAN, A.W.; ROELOFS, J.G.M. Some effects of nitrate versus ammonium nutrition on the nutrient fluxes in *Pinus sylvestris* seedlings. Effects of mycorrhizal infection. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 66, n. 6, p. 1091-1097, 1988.

COLMER, T.D.; BLOOM, A.J. A comparison of NH_4^+ and NO_3^- net fluxes along roots of rice and maize. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v. 21, n. 2, p. 240-246, 1998.

ENSTONE, D.E.; PETERSON, C.A.; HALLGREN, S.W. Anatomy of seedling tap roots of loblolly pine (*Pinus taeda* L.). **Trees**, Heidelberg, v. 15, n. 2, p. 98-111, 2001.

GARNETT, T.P.; SHABALA, S.N.; SMETHURST, P.J.; NEWMAN, I.A. Simultaneous measurement of ammonium, nitrate and proton fluxes along the length of eucalypt roots. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 236, n. 1, p. 55-62, 2001.

_____. Kinetics of ammonium and nitrate uptake by eucalypt roots and associated proton fluxes measured using ion selective microelectrodes. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 30, n. 11, p. 1165-1176, 2003.

GLASS, A.D.M. Nitrogen use efficiency of crop plants: physiological constraints upon nitrogen absorption. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Philadelphia, v. 22, n. 5, p. 453-470, 2003.

GOBERT, A.; PLASSARD, C. Measurement of net ion fluxes using ion-selective microelectrodes at the surface of ectomycorrhizal roots. **Symbiotic Fungi**, Heidelberg, v. 18, p.65-88, 2009.

HAWKINS, B.J.; BOUKCIM, H.; PLASSARD, C. A comparison of ammonium, nitrate and proton net fluxes along seedling roots of Douglas fir and lodgepole pine grown and measured with different inorganic nitrogen sources. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v. 31, n. 3, p. 278-287, 2008.

HENRIKSEN, G.H.; RAMAN, D.R.; WALKER, L.P.; SPANSWICK, R.M. Measurement of net fluxes of ammonium and nitrate at the surface of barley roots using ion-selective microelectrodes. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 99, n. 2, p. 734-747, 1992.

HINSINGER, P.; PLASSARD, C.; TANG, C.; JAILLARD, B. Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: a review. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 248, n. 1/2, p. 43-59, 2003.

KAMMINGA-VAN WIJK, C.; PRINS, H.B.A. The kinetics of NH_4^+ and NO_3^- uptake by Douglas fir from single N-solutions and from solutions containing both NH_4^+ and NO_3^- . **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 151, n. 1, p. 91-96, 1993.

KRONZUCKER, H.J.; SIDDIQI, M.Y.; GLASS, A. Kinetics of NO_3^- influx in spruce. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 109, n. 1, p. 319-326, 1995.

_____. Kinetics of NH_4^+ influx in spruce. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 110, n. 3, p. 773-779, 1996.

KRONZUCKER, H.J.; SIDDIQI, M.Y.; GLASS, A.D.M.; BRITTO, D.T. Root ammonium transport efficiency as a determinant in forest colonization patterns: an hypothesis. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 117, n. 2, p. 164-170, 2003.

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

MARSCHNER, H.; HÄUSFINEG, M.; GEORGE, E. Ammonium and nitrate uptake rates and rhizosphere pH in non-mycorrhizal roots of Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.]. **Trees**, Heidelberg, v. 5, n. 1, p. 14-21, 1991.

MCKENZIE, B.E.; PETERSON, C.A. Root browning in *Pinus banksiana* Lamb. and *Eucalyptus pilularis* Sm. 1. Anatomy and permeability of the white and tannin zones. **Botanica Acta**, Berlin, v. 108, n. 2, p. 127-137, 1995a.

_____. Root browning in *Pinus banksiana* Lamb. and *Eucalyptus pilularis* Sm. 2. Anatomy and permeability of the cork zone. **Botanica Acta**, Berlin, v. 108, n. 2, p. 138-143, 1995b.

MENGEL, K.; KIRKBY, E.A. **Principles of plant nutrition**. 5th ed. Dordrecht: Kluwer Academic, 2001. 849 p.

MIN, X.; SIDDIQI, M.Y.; GUY, R.D.; GLASS, A.D.M.; KRONZUCKER, H.J. A comparative kinetic analysis of nitrate and ammonium influx in two early successional tree species of temperate and boreal forest ecosystems. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v. 23, n. 3, p. 321-328, 2000.

- NEWMAN, I.A. Ion transport in roots: measurement of fluxes using ion-selective microelectrodes to characterize transporter function. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v. 24, n. 1, p. 1-14, 2001.
- NEWMAN, I.A.; KOCHIAN, L.V.; GRUSAK, M.A.; LUCAS, W.J. Fluxes of H and K in corn roots: characterization and stoichiometries using ion-selective microelectrodes. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 84, n. 4, p. 1177-1184, 1987.
- PLASSARD, C.; MESLEM, M.; SOUCHE, G. Localization and quantification of net fluxes of H⁺ along maize roots by combined use of pH-indicator dye videodensitometry and H⁺-selective microelectrodes. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 211, n. 1, p. 29-39, 1999.
- PLASSARD, C.; GUÉRIN-LAGUETTE, A.; VÉRY, A.A.; CASARIN, V.; THIBAUD, J.B. Local measurements of nitrate and potassium fluxes along roots of maritime pine. Effects of ectomycorrhizal symbiosis. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v. 25, n. 1, p. 75-84, 2002.
- RYAN, P.R.; NEWMAN, I.A.; SHIELDS, B. Ion fluxes in corn roots measured by microelectrodes with ion-specific liquid membranes. **Journal of Membrane Science**, Amsterdam, v. 53, n. 1/2, p. 59-69, 1990.
- SAS INSTITUTE. **SAS user's guide**: statistics. Cary, 2002-2003
- SCHEROMM, P.; PLASSARD, C.; SALSAC, L. Nitrate nutrition of maritime pine (*Pinus pinaster* Soland in Ait.) ectomycorrhizal with *Hebeloma cylindrosporium* Romagn. **New Phytologist**, Lancaster, v. 114, n. 1, p. 93-98, 1990.
- SHABALA, S.N.; NEWMAN, I.A. H⁺ flux kinetics around plant roots after short term exposure to low temperature: identifying critical temperatures for plant chilling tolerance. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v. 20, n. 11, p. 1401-1410, 1997.
- TAYLOR, A.R.; BLOOM, A.J. Ammonium, nitrate, and proton fluxes along the maize root. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v. 21, n. 12, p. 1255-1263, 1998.
- TAYLOR, J.H.; PETERSON, C.A. Morphometric analysis of *Pinus banksiana* Lamb. root anatomy during a 3-month field study. **Trees**, Heidelberg, v. 14, n. 5, p. 239-247, 2000.
- WARREN, C.R.; ADAMS, P.R. Uptake of nitrate, ammonium and glycine by plants of Tasmanian wet eucalypt forests. **Tree Physiology**, Oxford, v. 27, n. 3, p. 413-419, 2007.