

TEORES DE CLOROFILA DO CAPIM TIFTON 85 CULTIVADO COM NITROGÊNIO NA  
FORMA NÍTRICA OU AMONIAICAL*Chlorophyll content of Tifton 85 grass cultivated with nitrogen in nitric or ammoniacal form*Elio Barbieri Junior<sup>1</sup>, Roberto Oscar Pereyra Rossiello<sup>2\*</sup>, Everaldo Zonta<sup>3</sup>, Roberta Cristiane Ribeiro<sup>4</sup>, Osmário José Lima de Araújo<sup>5</sup><sup>1</sup> Doutor em Produção Animal; Professor em Instituto Federal de Mato Grosso: [elio.barbieri@srs.ifmt.edu.br](mailto:elio.barbieri@srs.ifmt.edu.br)<sup>2</sup> Doutor em Solos e Nutrição de Plantas; Professor em Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro: [rossiello@terra.com](mailto:rossiello@terra.com)<sup>3</sup> Doutor em Agronomia; Professor em Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro: [ezonta@ufrj.br](mailto:ezonta@ufrj.br)<sup>4</sup> Doutora em Química; Professor em Instituto Federal de Mato Grosso: [elio.barbieri@srs.ifmt.edu.br](mailto:elio.barbieri@srs.ifmt.edu.br)<sup>5</sup> Doutor em Agronomia; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro: [osmarioaraujo@hotmail.com](mailto:osmarioaraujo@hotmail.com)

\*Autor para correspondência

Artigo enviado em 17/09/2017, aceito em 20/03/2018 e publicado em 17/07/2018.

**Resumo** – O objetivo deste estudo foi avaliar, com base nos teores de clorofila obtidos de forma direta e indireta, o comportamento metabólico da espécie *Cynodon* spp. cv. Tifton 85 cultivado com N na forma nítrica ou amoniacal. O experimento foi realizado em cultivo hidropônico e foi conduzido em câmara de crescimento (*fitotron*) sob condições ambientais controladas. Os tratamentos consistiram de duas formas de N: amônia (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) e nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), combinados com quatro doses de aplicação (0,5; 2,0; 5,0; e 10,0 mM) e quatro datas de amostragem (14, 21, 28 e 35 DAC). Os teores de clorofila extraída (CFT) foram determinados por extração direta com o solvente N, N-Dimetilformamida. Previamente à extração direta, foram tomadas leituras com um medidor eletrônico de clorofila (ICF - Índice de clorofila). Os resultados mostraram que, nas plantas sob nutrição amoniacal os teores de CFT e ICF apresentaram crescimento e persistência superior a aqueles cultivados exclusivamente com nitrato. Em relação ao uso do clorofilômetro foi observada uma limitação devido a estabilidade nas leituras sob altas doses de N. Foi possível concluir que, com base nos teores de CFT e ICF, o capim Tifton 85 possui maior preferência metabólica para uma nutrição amoniacal.

**Palavras-chave** – *Cynodon* spp, eficiência assimilatória, medidor de clorofila.

**Abstract** – The objective of this study was to evaluate based on the chlorophyll content obtained directly and indirectly. As well as the metabolic behavior of the species *Cynodon* spp. grow crops Tifton 85 cultivated with N in the nitric or ammoniacal form. The experiment was carried out in hydroponic culture and was conducted in a growth chamber (*fitotron*) under controlled environmental conditions. The treatments consisted of two forms of N: ammonia (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) and nitrate (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), combined with four application rates (0.5, 2.0, 5.0 and 10.0 mM) and four sampling dates (14, 21, 28 and 35 DAC). Extracted chlorophyll content (CFT) was determined by direct extraction with the N, N-dimethylformamide solvent. Prior to direct extraction, readings were taken with an electronic chlorophyll meter (ICF - Chlorophyll Index). The results showed that, in plants under ammoniacal nutrition, CFT and ICF contents presented growth and persistence superior to those cultivated exclusively with nitrate. Regarding the use of the chlorophyllometer, a limitation was observed due to the stability in the readings under high doses of N. It was concluded that, based on CFT and ICF levels, Tifton 85 grass has a higher metabolic preference for ammoniacal nutrition.

**Keywords** – *Cynodon* spp, assimilatory efficiency, chlorophyll meter

## INTRODUÇÃO

As formas mais abundantes de nitrogênio (N) inorgânico na solução do solo são o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e o amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), intensamente estudados ao longo dos anos (CAMERON et al., 2013). As respostas das plantas à nutrição nitrogenada depende não somente da quantidade do nutriente disponível mas também da sua forma química, como íons  $\text{NH}_4^+$  ou  $\text{NO}_3^-$ . Ambas as formas podem ser absorvidas e metabolizadas, com consequências diferenciadas para a fisiologia e produtividade vegetal (XU et al., 2012).

O conhecimento das respostas metabólicas às diferentes doses e formas de N são indispensáveis para o manejo adequado e uso mais eficiente da adubação nitrogenada, minimizando ao mesmo tempo perdas de nutrientes para o sistema e melhorando a produtividade. Assim, tem sido desenvolvido um amplo rol de temas de pesquisa, tanto do ponto de vista metabólico, quanto produtivo, ligada à absorção, assimilação e utilização das formas de N-mineral em plantas (MOKHELE et al., 2012; CAMERON et al., 2013, VENDRAMINI et al., 2014; PERUZZO et al., 2015).

Em plantas forrageiras o suprimento de N influencia a produção da forragem em nível metabólico, principalmente por fazer parte das proteínas, pigmentos e enzimas diretamente relacionadas à fotossíntese como a ribulose 1,5 bifosfato carboxilase/oxigenase (RUBISCO) e clorofilas. Em relação as clorofilas, seu estudo se justifica, uma vez que a quantidade de radiação solar absorvida por uma folha se dá em função, principalmente, da concentração foliar de pigmentos fotossintéticos ativos. Portanto, maiores teores de clorofila podem, em princípio, favorecer diretamente o potencial fotossintético e a produção primária da planta (MOKHELE et al., 2012; GOMES et al., 2015).

A determinação quantitativa do conteúdo das clorofilas pode ser realizada tanto através de métodos diretos, de caráter destrutivo, quanto de forma indireta e não destrutiva, com base nas suas assinaturas espectrais (MUÑOZ-HUERTA, et al., 2013; DANIEL et al., 2016).

Os métodos de natureza destrutiva, têm sido os tradicionalmente empregados e são baseados na extração por meio de solventes orgânicos, seguida pela sua quantificação (CERQUEIRA et al., 2015; MELO et al., 2017).

Para a quantificação de forma indireta dos teores de clorofila nas folhas são utilizados sensores emissores em dois ou três comprimentos de onda distintos dependendo do equipamento utilizado. Sendo um ou dois que emitem dentro da banda do vermelho, próximos aos picos de cada tipo de clorofila ( $\lambda=635$  e  $660\text{nm}$ ) e um outro no infravermelho próximo ( $\lambda=880\text{nm}$ ), que tem função de compensar o teor de água da folha. Desta forma, um sensor inferior recebe a radiação transmitida através da estrutura foliar, e a partir desse dado, o aparelho fornece valores de leitura proporcionais à absorvância das clorofilas a, b e total (a+b), fornecendo assim, resultados em unidades

adimensionais na forma de Índice de Clorofila (SCHLICHTING et al., 2015). A utilização de tais sensores/equipamentos pode representar um importante avanço no manejo e diagnose nutricional das pastagens brasileiras, sendo para isso necessários estudos que verifiquem e comparem os padrões de resposta dos clorofilômetros em relação a extração direta tradicional sob manejos nutricionais contrastantes. Neste sentido, não se conhece o comportamento das leituras destes equipamentos em plantas cultivadas sob formas de N contrastantes e doses de N elevadas em um ambiente controlado. (SILVA et al., 2011; BARBIERI JUNIOR et al., 2012).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar, com base nos teores de clorofila obtidos de forma direta e indireta, o comportamento metabólico da espécie *Cynodon* spp. cv. Tifton 85 cultivado com N na forma nítrica ou amoniacal ( $\text{NO}_3^-$  ou  $\text{NH}_4^+$ ).

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em sistema hidropônico, dentro de ambiente controlado, utilizando-se para tal uma câmara climatizada (*fitotron*), localizada nas dependências do Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). O sistema hidropônico foi ligado a um sistema de arejamento descontínuo, ativado com frequência de 20 min/h, proporcionando a oxigenação necessária para as plantas (vasos com 1,7 L de solução nutritiva, quatro plantas/vaso). A câmara de crescimento foi ajustada para os seguintes parâmetros ambientais: a) Irradiância fotossintética: 1000  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ; b) fotoperíodo: 12/12 h (diurna/noturna); c) temperatura ambiente: 30/24 °C (diurna/noturna); d) umidade relativa do ar: 70%.

Para obtenção dos propágulos foram selecionados e coletados estolões sadios da espécie *Cynodon* spp. cultivar Tifton 85, cultivados em Planossolo Háptico, dentro de área experimental na UFRRJ. Os perfilhos com raízes basais emitidas, foram destacados, lavados e transplantados para bandejas contendo areia lavada e autoclavada como substrato. As bandejas foram mantidas em casa de vegetação durante duas semanas. Após esse período, uma nova seleção foi realizada com o objetivo de aumentar a uniformidade do material clonal utilizado no experimento.

A solução nutritiva utilizada foi a de Hoagland com formas puramente nítricas (N- $\text{NO}_3^-$ ) nitrato de Ca, Mg e K e puramente amoniacais (N- $\text{NH}_4^+$ ) utilizando sulfato de amônio, combinadas em quatro doses (0,5; 2,0; 5,0 e 10,0 mM de N), e quatro datas de amostragem do capim (14, 21, 28 e 35 dias, contados a partir de um corte de uniformização DAC) estipuladas a partir de experiência prévia de campo, com base no ciclo de rebrota do capim, até atingir 95% de interceptação da radiação fotossinteticamente ativa, sob as condições ambientais vigentes durante os meses de dezembro a fevereiro (SILVA et al., 2011).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições em esquema fatorial 2 x 4 x 4 (Forma de N x Dose x Época) totalizando 128 vasos.

O propósito principal dos tratamentos estudados foi o de induzir gradientes adequados de disponibilidade de N para a nutrição do capim cv. Tifton 85 sob as condições ambientais vigentes nos experimentos realizados.

Os teores de clorofila extraída foram determinados a partir da extração, em cinco lâminas foliares intactas, de dois discos com 6 mm de diâmetro cada, tirados da porção média da segunda ou terceira folha completamente expandida (ápice para base). Como solvente extrator, utilizou-se N, N Dimetilformamida (DMF, espectroscópica). As absorvâncias dos extratos foram analisadas em Espectrofotômetro UV-Visível marca Biospectro modelo SP 220, no comprimento de onda conforme apresentado pelos mesmos autores. As equações são apresentadas a seguir:

$$Clor_a = 12,64 \cdot (A664) - 2,99 \cdot (A647) \quad (1)$$

$$Clor_b = 23,26 \cdot (A647) - 5,6 \cdot (A664) \quad (2)$$

$$Clor_t(a+b) = 7,04 \cdot (A664) + 20,27 \cdot (A647) \quad (3)$$

Previamente a extração direta dos pigmentos foram feitas determinações indiretas do teor de clorofila foliar, utilizando as cinco lâminas foliares do capim selecionadas para extração direta. Em cada lâmina foram feitas três leituras, na porção média da folha. Foi utilizado um medidor eletrônico (clorofilômetro ClorofilOG® modelo CFL 1030). Este aparelho fornece valores de clorofila a, b e total, expressos em uma unidade chamada de Índice de Clorofila Falker (ICF).

Os dados foram submetidos a análise de variância procedendo-se aos desdobramentos, quando indicado, conforme os procedimentos do programa SAS versão 9.0. As médias foram discriminadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%. Quando pertinente obteve-se os coeficientes de regressão ou outra equação melhor ajustada com base no coeficiente de determinação e na resposta biológica esperada. Para tal também foi utilizado o software GraphPad Prism versão 5.0, onde foram obtidos os procedimentos de análise gráfico "Cubic spline".

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para os teores de clorofila total extraída (CFT), a análise estatística indicou existirem efeitos significativos para forma de N, dose e DAC ( $p < 0,0001$ ), assim como para as interações entre forma x dose ( $p = 0,0003$ ), forma x DAC e dose x DAC ( $p < 0,0001$ ).

Ao se observar as tendências de variação desenhadas pelo modelo de regressão para a interação forma de N x dose (Figura 1), as mesmas mostram que, os valores

de clorofila total (CFT), correspondentes à forma amoniacal foram sempre superiores aos da forma nítrica.

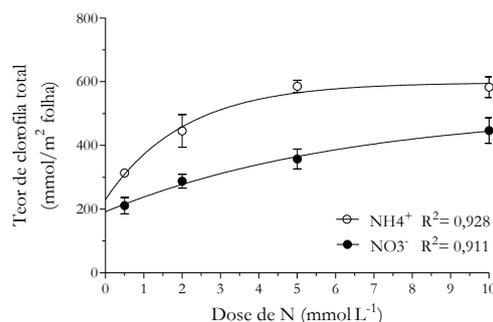


Figura 1. Teores de clorofila total, extraídos com DMF, em folhas do capim Tifton 85 cultivado em solução nutritiva, em resposta a duas formas de N mineral, e quatro doses de aplicação. As equações correspondentes são:  $Y(\text{NO}_3^-) = 512 - 320,4 \cdot \exp(-0,1555 \cdot x)$ ;  $Y(\text{NH}_4^+) = 597,1 - 367,1 \cdot \exp(-0,1555 \cdot x)$ . Barra vertical indica erro padrão de  $n = 4$  repetições por tratamento

Ao se seguir o curso temporal de desenvolvimento do capim, verifica-se em relação as formas de N, que sob nutrição amoniacal os teores de CFT experimentaram um aumento contínuo até os 28 DAC, enquanto que sob nutrição nítrica esses teores começam a declinar, de forma gradativa, já a partir dos 21 DAC (Figura 2A). Dessa forma, as diferenças entre teores de CFT foram maximizadas aos 28 DAC, quando o valor médio correspondente aos tratamentos contendo  $\text{NH}_4^+$  ( $553 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ ) resultou 78% maior do que o valor correspondente à forma nítrica ( $309 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ ).

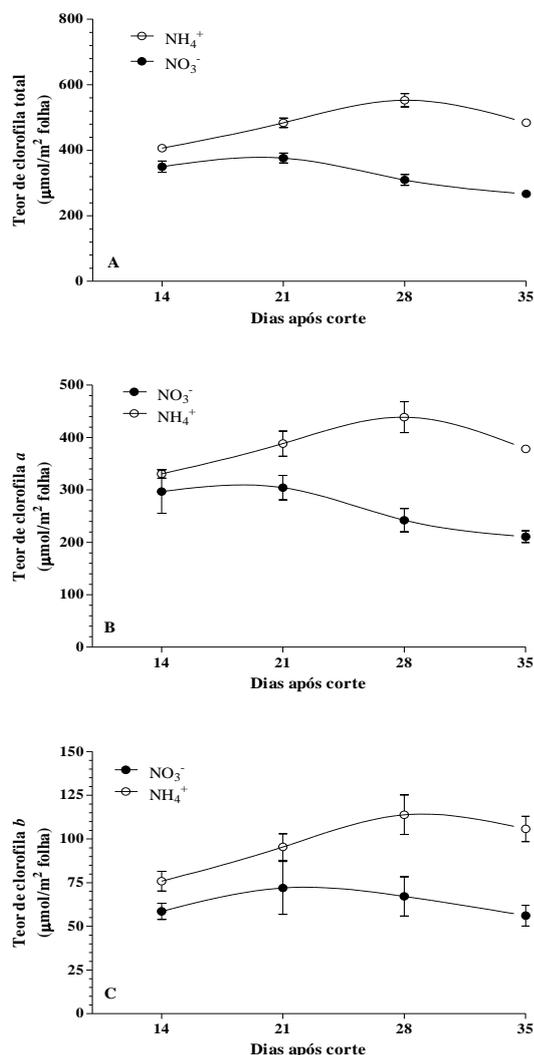


Figura 2. Variação temporal dos teores de clorofila extraída de discos foliares, obtidos de folhas do Tifton 85 cultivado com N na forma nítrica e amoniacal, em quatro épocas de amostragem. A) Clorofila total; B) Clorofila a; C) Clorofila b. As curvas conectando os pontos foram geradas iterativamente pelo procedimento de análise gráfico "Cubic spline". Barra vertical indica o erro padrão da média

Embora a CFT tenha sido apresentada em primeiro lugar, deve-se lembrar de que a mesma representa a soma das clorofilas a e b. Por tal razão, as tendências já discutidas na CFT repetem-se para a sua componente principal, a clorofila a. Em relação a esta última, todas as fontes de variação primária mostraram significância, pelo teste F ( $p < 0,0001$ ) assim como as interações entre forma x dose ( $p = 0,0003$ ), forma x DAC e dose x DAC ( $p < 0,0001$ ). Os teores associados às plantas sob nutrição amoniacal excederam sempre os correspondentes à nutrição nítrica, com o maior contraste aos 28 DAC (439 vs. 242  $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ ;  $\text{NH}_4^+$ : + 81%, Figura 2 B). A clorofila b também foi afetada

pelos mesmos fontes de variação, acompanhando as tendências da clorofila a (Figura 2 C).

Como consequência dessas flutuações temporais, a relação clorofila a:b também serviu para discriminar entre as duas formas, mas as diferenças foram mais notórias aos 14 e 35 dias (Figura 3).

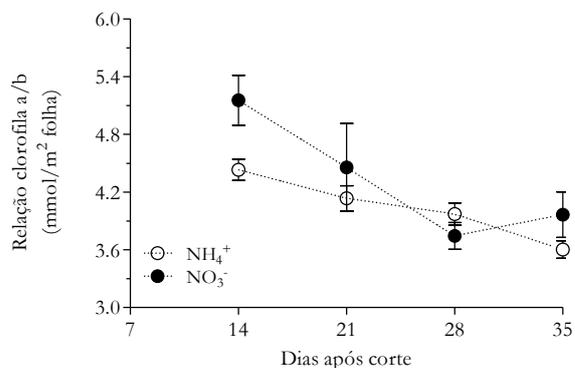


Figura 3. Variação temporal da relação entre teor de clorofila a:clorofila b, em folhas do capim Tifton 85, cultivado em solução nutritiva contendo N nas formas de  $\text{NO}_3^-$  ou  $\text{NH}_4^+$ . Barra vertical indica o erro padrão da média.

Um ponto interessante é a comparação com dados obtidos em experiências prévias quando o Tifton 85 foi avaliado em condições de campo. Preliminarmente, deve ser considerado que nas duas situações há uma série de diferenças bem marcantes, sendo a principal, do ponto de vista desta análise, o fato de que as fontes emissoras de radiação fotossinteticamente ativas foram diferentes. Se de origem solar, considera-se que um fluxo de radiação global de 1,0  $\text{MJ m}^{-2}$  equivale a um fluxo fotossintético de 4,6  $\text{mol fôton m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Levando-se em consideração os fluxos de radiação operantes dentro da câmara de crescimento e a duração do fotoperíodo, os mesmos se equivaleriam a 9,4  $\text{MJ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$  se as fontes emissoras fossem as mesmas. Em condições naturais, os fluxos de radiação, no mês de dezembro de 2008, tiveram média mensal entorno de 17  $\text{MJ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ . Nessas condições, no maior nível de N aplicado (150 kg N-uréia/ha), o CFT teve valor médio de 647  $\mu\text{mol m}^{-2}$  (máximo de 699  $\mu\text{mol m}^{-2}$ ) aos 24 DAC (Silva et al., 2011). O resultado dessa comparação indica que os teores de CFT registrados dentro do ambiente controlado (Figura 2A) são representativos e aparentemente não expressam qualquer alteração fisiológica, excluindo o fato de que a redução dos níveis ambientais de luz pode induzir aumentos compensatórios nos teores de clorofila (OLIVEIRA et al., 2013).

Em condições de campo, por outro lado, verificou-se uma redução progressiva dos valores de CFT, independentemente de dose aplicada, em função do avanço do período de rebrota (SILVA et al., 2011), fato este também observado no presente experimento, embora de forma mais atenuada (Figura 2A). Outro fator interessante neste contexto reside na relação observada entre a data em

que o capim Tifton 85, a campo, normalmente atinge 95% de interceptação luminosa e a data em que se observaram os maiores picos de clorofila (CFT), ambos em torno de 28 dias.

Com relação às determinações de clorofilas feitas com o aparelho ClorofilLOG®, e expressas em unidades ICF, os valores para clorofila total (ICF T) foram afetados por efeitos de forma ( $\text{NO}_3^-$  ou  $\text{NH}_4^+$ ), dose de N e DAC ( $p < 0,0001$ ), assim como para as interações simples entre forma x dose, forma x DAC e dose x DAC (todos  $p < 0,0001$ ). Os dados correspondentes ao efeito da interação forma x dose são apresentados na Figura 4, a qual deve ser comparada à Figura 1, relacionada aos mesmos tores de ICF extraídos com DMF, solvente que maximiza a recuperação de clorofila total extraível nesta cultivar. Dessa comparação, surge que as leituras do clorofilômetro tenderam a minimizar a magnitude das diferenças observadas entre as formas de N, quando determinadas por extração direta.

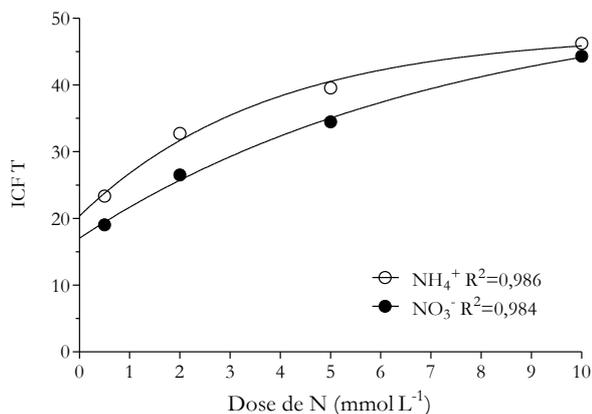


Figura 4. Valores de clorofila total (a+b) obtidos por leitura de clorofilômetro, e expressos em unidades relativas (Índice de Clorofila Falker Total, ICF-T), em lâminas foliares do capim Tifton 85 cultivado em solução nutritiva, em resposta a duas formas de N mineral, e quatro doses de aplicação. Barra vertical indica o erro padrão da média.

Aparentemente, isso aconteceu por causa de uma subestimativa sistemática dos maiores valores de CFT associados à forma amoniacal, que tendeu a se acentuar no maior nível de N aplicado. Assim, na dose de 10 mM, os valores de ICF-T correspondentes às duas formas praticamente igualaram-se, em negação do que revelou a extração direta (Figuras 1 e 4). Resultados semelhantes foram descritos por Hurtado et al. (2010) quando utilizou aparelho de origem Japonesa. Desta forma, este parece ser um problema geral dos medidores portáteis, no sentido de que conforme aumenta as doses de N e conseqüentemente os teores de clorofila nas folhas, as suas estimativas vão perdendo sensibilidade.

Segundo Richardson et al. (2002) uma explicação possível para a perda de sensibilidade destes equipamentos

é que a distribuição das moléculas de clorofila em folhas com alto teor é muito menos uniforme que em folhas com baixo teor, o que dá origem ao chamado “efeito peneira”. Outra causa possível radicaria em um efeito de saturação de resposta induzida pela alta concentração de clorofilas, as quais absorveriam praticamente toda a luz emitida pelo diodo em  $\lambda = 660$  nm, transmitindo muito pouco dessa radiação até o lado oposto. Esse tipo de restrição, todavia, em nada tira o mérito operacional do aparelho, o qual, trabalhando dentro de faixas não excessivamente elevadas de adubação nitrogenada, tem mostrado excelente capacidade preditiva dos teores de N foliar e de massa de forragem em Tifton 85, bem como para outras culturas (SILVA et al., 2011; BARBIERI JUNIOR et al., 2012; SCHLICHTING et al., 2015).

A partir da discussão anterior, e aceitando-se os teores de CFT obtidos por extração direta como uma melhor aproximação do comportamento do capim em termos de produção de clorofilas (Figuras 1 e 2), cabe discutir considerações importantes em relação à presente pesquisa. A primeira é a constatação de que a nutrição amoniacal favoreceu um aumento do teor de clorofila foliar total em consequência do aumento da concentração externa de N (Figura 1). Isto foi associado a uma redução da relação clorofila a: clorofila b, o que pode ser visto como um traço de eficiência, já que a clorofila b é um pigmento que não está diretamente ligado à transdução de luz para a fotossíntese, mas à ampliação da faixa de luz utilizada na fotossíntese. Vale lembrar que a energia absorvida pela clorofila b é transferida na forma de energia de éxciton, ou seja, excitando as moléculas vizinhas até alcançar o centro de reação, onde de fato ocorre a transformação dessa energia, sendo capaz de transferir elétrons.

Em experimentos de campo, onde as parcelas de Tifton 85 receberam adubação nitrogenada a partir de uréia ou sulfato de amônio, permitiram o estabelecimento de relações positivas, altamente significativas, entre as concentrações foliares de clorofilas e as produções de biomassa seca total da parte aérea ou de lâminas foliares (SILVA et al., 2011). Esses resultados, então, conduziram à conclusão de que quanto maior o teor de clorofilas nas folhas, maior seria a produção esperada de biomassa. Todavia, pode acontecer que tal fenômeno não esteja operando no presente experimento, desde que os teores de clorofila nas folhas das plantas sob nutrição amoniacal, tenham alcançado níveis, em excesso aos requeridos para a máxima taxa fotossintética possível, como foi mencionado previamente.

Grande parte das revisões de literatura sobre este assunto mencionam o fato da nutrição amoniacal ser uma opção energeticamente mais econômica para as plantas do que a nítrica, em função dos níveis de oxidação de cada um desses íons. Por outro lado, como é preciso uma considerável quantidade de esqueletos de carbono na forma de cetoácidos para a assimilação do  $\text{NH}_4^+$  (BRITTO & KRONZUCKER, 2002), é necessário que as plantas tenham uma alta capacidade para gerar e alocar os fluxos de

carboidratos solúveis necessários para a neutralização dos níveis, potencialmente tóxicos, de amônio nos diversos tecidos. Ainda que este último aspecto seja uma condição necessária, não é suficiente, já que não basta as plantas apresentarem altos teores de açúcares para a perfeita assimilação do N, sendo necessário também apresentarem elevada atividade das vias bioquímicas que levam do açúcar ao cetoácido (GARRIDO et al., 2008).

Espera-se que, novos estudos, conduzidos sob condições ambientais controladas possam contribuir com esclarecimentos quanto a mecanismos fisiológicos mais profundos envolvidos nestas situações onde ocorrem as máximas respostas produtivas para o Capim cv. Tifton 85.

## CONCLUSÃO

A Quanto a quantificação de clorofilas e preferências metabólica do capim Tifton 85 foi possível concluir:

A nutrição amoniacal favoreceu o aumento do teor de clorofila foliar total em consequência do aumento da concentração externa de N.

Os maiores contrastes entre as formas de N, para clorofila total, foram registrado aos 28 dias de rebrota.

As leituras do clorofilômetro tenderam a minimizar a magnitude das diferenças observadas entre as formas de N. Essa característica se acentuou no maior nível de N aplicado e principalmente sobre as plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$ .

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro do CNPq e FAPEMAT para realização deste estudo.

## REFERÊNCIAS

- BARBIERI JUNIOR, É.; ROSSIELLO, R.O.P.; SILVA, R.V.M.M.; RIBEIRO, R.C.; MORENZ, M.J.F. Um novo clorofilômetro para estimar os teores de clorofila em folhas do capim Tifton 85. *Ciência Rural*, v.42, n.12, p.2242-2245, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782012005000109>.
- BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H.J.  $\text{NH}_4^+$  toxicity in higher plants: a critical review. *Journal Plant Physiology*, v.159, n.6, p.567-584, 2002. DOI: <http://dx.doi.org/10.1078/0176-1617-0774>.
- CAMERON, K.C.; DI, H.J.; MOIR, J.L. Nitrogen losses from the soil/plant system: a review. *Annals of Applied Biology*, v.162, n.2, p.145-173, 2013. <http://dx.doi.org/10.1111/aab.12014>.
- CERQUEIRA, R.C.; COSTA, M.; CHAVES, M.M.; RODRIGUES, J.D. Fisiologia e metabolismo foliar em duas variedades de videira sujeitas a um ciclo de déficit hídrico e reidratação. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.10, n.2, p.211-217, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.5039/agraria.v10i2a5045>.
- DANIEL, E.S.; AMARANTE, C.V.T.; MARTIN, M.S.; MIQUELLUTI, D.J.; CAMPOS, M.L. Relação entre o teor absoluto e relativo de clorofila em folhas de vimeiro. *Ciência Florestal*, v.26, n.1, p.307-312, 2016.
- GARRIDO, R.G.; GARRIDO, F.S.R.G.; SOUSA, S.R.; FERNANDES, M.S. Physiological and morphological adaptations in two rice varieties cultivated under ammonium and light deficiency. *Journal of Biological Sciences*, v.8, n.1, p.113-118, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.3923/jbs.2008.113.118>.
- GOMES, E. P.; RICKLI, M. E.; CECATO, U.; VIEIRA, C. V.; SAPIAS, J. G.; SANCHES, A. C. Produtividade do capim Tifton 85 sob irrigação e doses de nitrogênio. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v.19, p. 317-323, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v19n4p317-323>
- HURTADO, S.M.C.; SILVA, C.A.; RESENDE, A.V.; CORAZZA, E.J.; SHIRATSUCHI, L.S.; HIGASHIKAWA, F.S. Sensibilidade do clorofilômetro para diagnóstico nutricional de nitrogênio no milho. *Ciência e Agrotecnologia*, v.34, n.3, p.688-697, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542010000300023>.
- MELO, H.F.; SOUZA, E.R.; DUARTE, H.H.F.; CUNHA, J.C.; SANTOS, H.R.B. Gas exchange and photosynthetic pigments in bell pepper irrigated with saline water. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.21, n.1, p.38-43, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v21n1p38-43>.
- MOKHELE, B.; ZHAN, X.; YANG, G.; ZHANG, X. Review: Nitrogen assimilation in crop plants and its affecting factors, *Canadian Journal of Plant Science*, v.92, n.3, p.399-405, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.4141/cjps2011-135>.
- MUÑOZ-HUERTA, R.F.; GUEVARA-GONZALEZ, R.G.; CONTRERAS-MEDINA, L.M.; TORRES-PACHECO, I.; PRADO-OLIVAREZ, J.; OCAMPO-VELAZQUEZ, R.V. A review of methods for sensing the nitrogen status in plants: advantages, disadvantages and recent advances. *Sensors*, v.13, n.8, p.10823-10843, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/s130810823>.
- NORMAN, J.M.; ARKEBAUER, T.J. Predicting canopy light-use efficiency from leaf characteristics. In: HANKS, J.;

RITCHIE, J.T. *Modeling plant and soil systems*. Madison: American Society of Agronomy, 1991. p.125-144.

OLIVEIRA, F.L.R.; MOTA, V.A.; RAMOS, M.S.; SANTOS, L.D.T.; OLIVEIRA, N.J.F.; GERASEEV, L.C. Comportamento de *Andropogon gayanus* cv. 'planaltina' e *Panicum maximum* cv. 'tanzânia' sob sombreamento. *Ciência Rural*, v.43, n.2, p.348-354, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782013000200026>

PERUZZO, A., LUNELLI, L., ALVES M.V., NESI, C.N. Efeito do nitrogênio incorporado ou em superfície na produtividade de milho. *Revista Scientia Agraria*, n.3, v.16, p. 33-41. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v16i3.46503>

RICHARDSON, A.D.; DUGAN, S.P.; BERLYN, G.P. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New Phytologist*, v.153, n.1, p.185-194, 2002. DOI: <http://dx.doi.org/doi:10.1046/j.0028-646X.2001.00289.x>.

SCHLICHTING, A.F.; BONFIM-SILVA, E.M.; SILVA, M.C.; PIETRO-SOUZA, W.; SILVA, T.J.A.; FARIAS, L.N. Efficiency of portable chlorophyll meters in assessing the nutritional status of wheat plants. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.19, n.12, p.1148-1151, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v19n12p1148-1151>.

SILVA, R.V.M.M.; ROSSIELLO, R.O.R.; MORENZ, M.J.F.; BARBIERI JUNIOR, E.; GOMES, R.L.T.; CAMARGO FILHO, S.T. Uso de clorofilometro na avaliação da adubação nitrogenada e potássica no capim Tifton 85. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.12, n.3, p.828-839, 2011. <http://revistas.ufba.br/index.php/rbspa/article/viewArticle/2114>. 15 Set.. 2017.

VENDRAMINI, J.M.B.; DUBEUX JR, J.C.B.; SILVEIRA, M.L. Nutrient cycling in tropical pasture ecosystems. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.9, n.2, p.308-315, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.5039/agraria.v9i2a3730>.

XU, G.; FAN, X.; MILLER, A.J. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Annual Review of Plant Biology*, v.63, n.1, p.153-182, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105532>.

XING, S., WANG, J., ZHOU, Y., BLOSZIES, S.A., TU, C.; HU, S. Effects of NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N Ratios on Photosynthetic Characteristics, Dry Matter Yield and Nitrate Concentration of Spinach. *Experimental Agriculture*, v.51, p.151-160, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/S0014479714000192>