Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Parâmetros morfogênicos, nutricionais e produtivos do capim-piatã suprido com combinações de doses de nitrogênio e enxofre

Beatriz Nastaro

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Solos e Nutrição de Plantas

Piracicaba
2012

Beatriz Nastaro
Engenheira Agrônoma

Parâmetros morfogênicos, nutricionais e produtivos do capim-piatã suprido com combinações de doses de nitrogênio e enxofre

Orientador:
Prof. Dr. **FRANCISCO ANTONIO MONTEIRO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de Concentração: Solos e Nutrição de Plantas

Piracicaba
2012

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

Nastaro, Beatriz
Parâmetros morfogênicos, nutricionais e produtivos do capim-piatã suprido com combinações de doses de nitrogênio e enxofre / Beatriz Nastaro.- - Piracicaba, 2012.
104 p: il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Brachiaria 2. Diagnose foliar 3. Gramíneas forrageiras 4. Nutrição vegetal 5. Produção vegetal 6. Sistema radicular I. Título

CDD 633.2
N269p

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

Aos meus pais, **Francisco Carlos Nastaro** e **Marlene Zambianco Nastaro**,

Aos meus irmãos **Evandro** e **Felipe**

Ao meu noivo **Renato Alcindo Boschiero**,

Pelo amor, carinho, compreensão e incentivo

OFEREÇO E DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora Aparecida, por sempre iluminarem meu caminho, guiarem os meus passos e me darem força e motivação em todas as etapas da minha vida.

Ao meu orientador, professor Dr. Francisco Antonio Monteiro, por ter acreditado em minha capacidade profissional. Agradeço pela amizade, convivência, compreensão e todos os conhecimentos que me foram transmitidos.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, bem como ao Departamento de Ciência do Solo pela oportunidade de realização do curso de Mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de mestrado e pelo apoio financeiro para a execução do projeto.

Às funcionárias do Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas do Departamento de Ciência do Solo da ESALQ-USP: Edinéia Cristina Scervino Mondoni, Lúcia Helena Spessotto Pavan Forti, Lurdes Aparecida Dário de Gonzales, Nivanda Maria de Moura Ruiz e Sueli Maria Amaral Campos Bovi, pela atenção e apoio dispensados para realização das atividades laboratoriais.

A todos os professores do Programa de Pós Graduação em Solos e Nutrição de Plantas da ESALQ-USP, bem como aos professores de outros programas de Pós Graduação em que tive a oportunidade de cursas disciplinas, pelos conhecimentos transmitidos.

Aos meus amigos e colegas da pós graduação na ESALQ-USP por toda ajuda e companheirismo: Aijânio Gomes de Brito Silva, Ana Paula Bettoni Teles, Edison Aparecido Mome Filho, Elisângela Dupas, Fabiana Schmidt, Fabiano Daniel De Bona, Flávio Henrique Silveira Rabêlo, Ioná Rech, Marcos Rodrigues, Márcio Mahmoud Megda, Roberta Corrêa Nogueirol, Sâmala Glícia Carneiro Silva, Tiago Barreto Garcez e Wilfrand Ferney Bejarano Herrera.

Em especial à minha colega de pós graduação, companheira e grande amiga Carla Elisa Alves Bastos que me ajudou em todas as etapas do projeto, me incentivou e apoiou em todos os momentos.

Aos professores Hélio Grassi Filho e Rogério Peres Soratto da Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp de Botucatu, orientadores na graduação. Agradeço pela contribuição na minha formação acadêmica e científica.

E a todos que colaboraram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

"A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê"

Arthur Schopenhauer (1788-1860), filósofo alemão

SUMÁRIO

RESUMO 11
ABSTRACT 13
1 INTRODUÇÃO 15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 17
2.1 Contextualização das pastagens no Brasil 17
2.2 Nitrogênio na planta 19
2.2.1 Metabolismo do nitrogênio 19
2.2.2 Nitrogênio em plantas forrageiras 20
2.2.3 Avaliação do estado nutricional dos tecidos vegetais em relação ao nitrogênio 22
2.3 Enxofre na planta 24
2.3.1 Metabolismo do enxofre 24
2.3.2 Enxofre em plantas forrageiras 25
2.3.3 Avaliação do estado nutricional dos tecidos vegetais em relação ao enxofre 26
2.4 Nitrogênio x enxofre em plantas forrageiras 28
3 MATERIAL E MÉTODOS 29
3.1 Localização do experimento e espécie forrageira 29
3.2 Doses de nitrogênio e enxofre, delineamento experimental e solução nutritiva 29
3.3 Instalação e condução do experimento 30
3.4 Condições climáticas 32
3.5 Corte das plantas 32
3.6 Avaliações 33
3.6.1 Emissão de folhas e perfilhos 33
3.6.2 Taxa de aparecimento de folhas e filocrono 33
3.6.3 Área foliar 34
3.6.4 Produção de massa seca 34
3.6.5 Superfície e comprimento radiculares 34
3.6.6 Atividade da redutase do nitrato 34
3.6.7 Valor SPAD 35
3.6.8 Determinação das concentrações de nitrogênio e enxofre (total e inorgânico) 35
3.6.9 Relações nitrogênio total:enxofre total e enxofre-sulfato:enxofre total 36
3.7 Análise estatística 36

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 39
4.1 Alterações morfogênicas e produção das plantas 39
4.1.1 Número total de perfilhos e folhas 39
4.1.2 Taxa de aparecimento de folhas e filocrono 43
4.1.3 Área foliar 46
4.1.4 Produção de massa seca da parte aérea 49
4.2 Modificações no sistema radicular das plantas 52
4.2.1 Produção de massa seca do sistema radicular 52
4.2.2 Comprimento e superfície radiculares totais 55
4.2.3 Comprimento e superfície radiculares específicos 57
4.3 Alterações nos parâmetros nutricionais das plantas 62
4.3.1 Redutase do nitrato 62
4.3.2 Leitura SPAD 64
4.3.3 Nitrogênio total 66
4.3.4 Nitrogênio na forma inorgânica (nitrato e amônio) 71
4.3.5. Enxofre total 73
4.3.6 Enxofre na forma de sulfato 79
4.3.7 Relação nitrogênio total:enxofre total 81
4.3.8 Relação enxofre-sulfato:enxofre total 84
5 CONCLUSÕES 87
REFERÊNCIAS 89

RESUMO

Parâmetros morfogênicos, nutricionais e produtivos do capim-piatã suprido com combinações de doses de nitrogênio e enxofre

O cultivar Piatã de *Brachiaria brizantha* é uma gramínea forrageira de lançamento recente para uso nas pastagens brasileiras e a pesquisa relativa à nutrição mineral deste capim é escassa. O nitrogênio é o principal responsável pelo aumento da produtividade em plantas forrageiras, porém a associação com o enxofre pode influir nas respostas das plantas forrageiras à adubação. Mediante a combinação de doses de nitrogênio com doses de enxofre, objetivou-se estudar as características morfogênicas, nutricionais e produtivas do capim-piatã cultivado em solução nutritiva, empregando-se a sílica como substrato. O experimento foi realizado em casa de vegetação e estudou cinco doses de nitrogênio (2; 9; 16; 23 e 30 mmol L^{-1}) e cinco doses de enxofre (0,1; 0,7; 1,3; 1,9 e 2,5 mmol L^{-1}), em esquema fatorial 5^2 fracionado, em delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições. As plantas foram submetidas a dois cortes, sendo o primeiro aos 44 dias após o transplantio e o segundo 25 dias após o primeiro corte. A interação doses de nitrogênio x doses de enxofre foi significativa para o número total de folhas e perfilhos, taxa de aparecimento de folhas e filocrono, área foliar, massa seca da parte aérea e das raízes, valor SPAD, comprimento e superfície radiculares totais, concentração de nitrogênio e de enxofre nos tecidos foliares e radiculares, concentração de nitrato e relação nitrogênio total:enxofre total (Nt:St) em pelo menos um dos dois ciclos de crescimento do capim-piatã. As mais elevadas doses de nitrogênio e de enxofre maximizaram o crescimento e desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular das plantas. Doses elevadas de nitrogênio diminuíram o comprimento radicular específico e a relação enxofre-sulfato:enxofre total ($S\text{-}SO_4$:St) nas folhas diagnósticas do capim, além de aumentar a atividade da enzima redutase do nitrato e a concentração de amônio nesses tecidos. A dose de enxofre de aproximadamente 1,3 mmol L^{-1} proporcionou o maior comprimento e superfície radiculares específicos, enquanto a dose mais alta de enxofre (2,5 mmol L^{-1}) maximizou a concentração de enxofre-sulfato e a relação $S\text{-}SO_4$:St nas folhas diagnósticas das plantas. Correlações significativas e positivas foram constatadas entre a concentração de nitrogênio total, valor SPAD e a concentração de enxofre total das folhas diagnósticas e a produção de massa seca das plantas, nos dois cortes do capim-piatã. A concentração de nitrogênio nas folhas diagnósticas do capim-piatã e o valor SPAD servem como bons parâmetros para a avaliação do estado nutricional das plantas em relação ao nitrogênio, enquanto para a avaliação do estado nutricional do enxofre nas folhas diagnósticas do capim-piatã, a concentração de enxofre total e a relação Nt:St devem ser tomadas em conjunto.

Palavras chave: *Brachiaria brizantha*; Diagnose nutricional; Nutrição da planta; Parte aérea; Produção; Sistema radicular

ABSTRACT

Piatã palisadegrass morphogenic, nutritional and productive parameters related to nitrogen and sulphur.

Piatã cultivar of *Brachiaria brizantha* is a recently released forage grass to be used in brazilian pastures and research on mineral nutrition of this grass is scarce. Nitrogen is the main nutrient to increase forage productivity, but the association with sulphur can influence plant response to fertilization. Through the combination of nitrogen rates with sulphur rates, the objective was to study the morphological, nutritional and productive characteristics of Piatã palissadegrass grown in nutrient solution, by using ground quartz as substrate. The experiment was conducted in greenhouse and five rates of nitrogen (2, 9, 16, 23 and 30 mmol L^{-1}) were combined with five rates of sulphur (0.1, 0.7, 1.3, 1.9 and 2.5 mmol L^{-1}) in a 5^2 fractionated factorial set in randomized block design, with four replications. Plants were harvested two times, the first harvest was done 44 days after transplanting and the second one was 25 days after the first harvest. The interaction nitrogen rates x sulphur rates was significant for the total number of leaves and tillers, leaf appearance rate, phyllochron, leaf area, dry mass of shoots and roots, SPAD value, root length and root surface, nitrogen and sulphur concentrations in the diagnostic leaves and roots, nitrate concentration and total nitrogen:total sulphur ratio in at least one of the two growth cycles of Piatã palissadegrass. High nitrogen and sulphur rates maximized growth of shoots and roots of the plants. High nitrogen rates resulted in low specific root length and sulfate-sulphur:total sulphur ratio (S-SO_4:St) in diagnostic leaves, in addition to increasing the activity of the nitrate reductase and ammonium concentration in diagnostic tissue. Sulphur rate about 1.3 mmol L^{-1} provided the highest specific root length and surface, while the highest sulphur rates (2.5 mmol L^{-1}) maximized sulfate-sulphur concentration and S-SO_4:St ratio in diagnostic leaves. There was a significant and positive correlation between the concentration of total nitrogen, SPAD value and total sulphur concentration in diagnostic leaves with plant dry matter production, in both harvests of Piatã palissadegrass. Nitrogen concentration and SPAD value in diagnostic leaves of Piatã palissadegrass can be used as good parameters for assessing the nutritional status of plants in relation to nitrogen, while for the assessment of sulphur nutrition status in diagnostic leaves of Piatã palissadegrass, the concentration of total sulphur and total nitrogen:total sulphur ratio should be taken together.

Keywords: *Brachiaria brizantha*; Nutritional diagnosis; Plant nutrition; Production; Shoot; Root system

1 INTRODUÇÃO

No Brasil e no mundo tropical, a bovinocultura caracteriza-se pela grande dependência das pastagens para produzir proteína animal, seja ela carne ou leite, uma vez que esta é a principal e a fonte de alimento de mais baixo custo para os ruminantes, que são eficientes em transformar a massa das pastagens em energia para manutenção e produção. Dentre as plantas forrageiras mais utilizadas nos sistemas cultivados brasileiros estão os capins do gênero *Brachiaria*, que são amplamente utilizados devido à grande adaptabilidade às variadas condições de clima e solo.

A ampliação da agricultura, principalmente com aumentos nas áreas de cana-de-açúcar e silvicultura, vem entrando em concorrência direta com as áreas das pastagens brasileiras, que necessitam ser mais produtivas para compensar a diminuição de área. Além disso, a intensificação de uso das pastagens com a utilização de manejo mais adequado tem demandado cultivares mais competitivos e eficientes. Dessa forma, há demanda crescente por plantas mais adaptadas às variações de clima e solo, que tenham alta produção de massa seca, com menor sazonalidade de produção, grande quantidade de folhas com alto valor nutritivo e maior resistência a pragas e doenças.

Nesse contexto, a *Brachiaria brizantha* cv. Piatã apresenta-se como alternativa interessante para a produção de ruminantes a pasto e diversificação das pastagens. Por ser um cultivar novo, lançado em 2007 pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), pouco se sabe a respeito da produção, nutrição e manejo desse capim em função do fornecimento de nutrientes às plantas, como por exemplo, o de nitrogênio e de enxofre. Embora a recomendação de uso do capim-piatã seja semelhante àquela para o capim-marandu (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu), é possível que, no sistema de produção, o capim-piatã apresente necessidades nutricionais e de manejo distintas às do capim-marandu, assim como ocorre com o cultivar Xaraés. Dessa forma, há que se buscar suprir essas informações, uma vez que o adequado fornecimento de nutrientes e o tipo de manejo adotado nas gramíneas forrageiras são de extrema importância para a obtenção de maiores patamares de produtividade associados ao melhor valor nutritivo da forragem produzida, necessários para desenvolver a atividade pecuária de forma mais produtiva e eficiente.

O nitrogênio é o nutriente absorvido em maior quantidade pelas plantas e é essencial para promover aumento de produtividade nas pastagens, pois ele é responsável por características como o aparecimento e o desenvolvimento dos perfilhos, além do tamanho das folhas, fatores que estão diretamente relacionados à produção de massa seca pela planta forrageira. Contudo, um fator que tem interferido na resposta da planta forrageira à adubação

nitrogenada é a fertilização com enxofre, uma vez que existe estreita relação entre esses dois nutrientes no metabolismo e na nutrição vegetal. Em plantas deficientes em enxofre, o crescimento é retardado, o que prejudica a produção de massa seca das gramíneas, mesmo havendo suprimento adequado de outros nutrientes.

A preocupação com a utilização de fertilizantes à base de enxofre tem se tornado mais intensa nas décadas mais recentes, devido à diminuição da poluição ambiental, que fornecia para as plantas parte do enxofre oriundo da atmosfera; à utilização de adubos concentrados, que excluem o enxofre de suas formulações e à intensificação da produção, que exaure mais rapidamente os nutrientes do solo e aumenta a necessidade de sua reposição para a manutenção da produção forrageira.

Experimentos conduzidos anteriormente mostraram a relevância de se estudar as combinações desses dois nutrientes na nutrição e produção de outros capins dos gêneros *Brachiaria* e *Panicum*. Baseado na hipótese de que o fornecimento de nitrogênio e de enxofre pode alterar os padrões de crescimento e desenvolvimento do capim-piatã, o presente estudo teve por objetivo testar se as doses desses nutrientes, combinadas ou isoladamente, podem afetar i) os atributos morfogênicos e produtivos da parte aérea do capim-piatã; ii) os atributos morfológicos e produtivos do sistema radicular do capim e iii) os atributos nutricionais dessas plantas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Contextualização das pastagens no Brasil

O Brasil possui aproximadamente 170 milhões de hectares de terras ocupadas por pastagens (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2006), cerca de 20% do total do território nacional, que respondem pela alimentação de aproximadamente 185 milhões de cabeças de bovinos (ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA - ANUALPEC, 2012). A pecuária brasileira é caracterizada por criar a maioria do rebanho bovino em pasto (FERRAZ; FELÍCIO, 2010), sendo as forragens uma forma prática e econômica de produzir e oferecer alimento aos ruminantes. Em função desse atributo, o Brasil tem um dos menores custos de produção de carne bovina do mundo (CARVALHO; ZEN; TAVARES, 2009; FERRAZ; FELÍCIO, 2010), o que permite ao país se enquadrar entre os maiores produtores e exportadores mundiais do produto (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE - ABIEC, 2011).

Aproximadamente 60% das áreas totais de pastagens no Brasil são ocupadas por pastagens cultivadas, nas quais predominam os capins do gênero *Brachiaria* (FERRAZ, 2008), que são amplamente disseminados pelo território nacional devido à grande adaptabilidade às variadas condições de clima e solo (KELLER-GREIN; MAASS; HANSON, 1996).

O gênero *Brachiaria* pertence à família *Poaceae* e reúne cerca de 100 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais da América, Ásia, Oceania e, especialmente da África (KELLER-GREIN; MAASS; HANSON, 1996). Entre essas espécies se destacam *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria ruziziensis*, como espécies economicamente mais importantes (FALCÃO; VALLE; ARAÚJO, 2003). As espécies desse gênero são classificadas como gramíneas tropicais (plantas C4) e apresentam maior eficiência fotossintética e maiores produtividades em termos de massa seca (VALLE, 2001), quando comparadas às gramíneas de clima temperado (plantas C3).

Na região dos Cerrados brasileiros, as espécies do gênero *Brachiaria* ocupam cerca de 51 milhões de hectares, constituindo 85% das gramíneas forrageiras cultivadas nesse ecossistema (MACEDO, 2005). Apesar da vasta utilização, 80% das sementes comercializadas dessas gramíneas desse gênero têm pertencido a apenas dois capins, *B. brizantha* cv. Marandu e *B. decumbens* cv. Basilisk (ANDRADE, 2001), com maior destaque para o cultivar Marandu, que tornou-se o capim mais plantado no Brasil, além de ser muito

utilizado em outros países, principalmente na América Latina, devido à vantagem de apresentar resistência às duas espécies de cigarrinhas *Deois flavopicta* e *Zulia entreriana* (ARAÚJO; DEMINICIS, CAMPOS, 2008).

A utilização de poucos cultivares em regiões tropicais cria um sistema de monocultura e expõe o ecossistema, uma vez que a falta de biodiversidade aumenta a pressão sobre pragas e/ou doenças, podendo eliminar um cultivar suscetível (ARAÚJO; DEMINICIS, CAMPOS, 2008). Além disso, sistemas de produção mais intensivos têm demandado cultivares de espécies forrageiras mais produtivas, de melhor qualidade e mais adaptadas a ofertas ambientais específicas (PEREIRA; REZENDE; RUIZ, 2005). Neste contexto, outros cultivares foram desenvolvidos no Brasil, como o capim-piatã (*B. brizantha* cv. Piatã), que é o mais recentemente lançado pela Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária).

O capim-piatã foi selecionado durante 16 anos de avaliações pela Embrapa e parceiros, a partir de material coletado na década de 1980, na região de Welega, Etiópia e foi lançado no mercado brasileiro em maio de 2007. O nome Piatã é de origem tupi-guarani e significa fortaleza, o qual foi atribuído a esse cultivar pelas suas características de robustez e produtividade (EMBRAPA, 2012).

Segundo a Embrapa (2012), o cultivar Piatã é adaptado a solos de média e boa fertilidade das zonas tropicais onde, tradicionalmente, outros cultivares de *Brachiaria brizantha* (como os capins Marandu e Xaraés) são utilizados. As plantas do capim-piatã mostram crescimento ereto e hábito cespitoso de porte médio, com colmos verdes e finos, florescimento precoce e resistência à cigarrinha das pastagens (EMBRAPA, 2012). As vantagens conferidas ao capim-piatã em relação aos cultivares Marandu e Xaraés são a produção de forragem de melhor qualidade e o maior acúmulo de folhas, além de maior tolerância a solos com má drenagem do que o capim-marandu (VALLE et al., 2007). Em função de suas características, o capim-piatã é recomendado para diversificação das pastagens em vários ambientes de cultivo, incluindo o Estado de São Paulo (EMBRAPA, 2012).

Silveira et al. (2007) realizaram, por meio de análise multivariada, o agrupamento de cultivares de *Panicum* e *Brachiaria* com base nas características morfogênicas e estruturais e os resultados mostraram que o cultivar Piatã apresenta características mais próximas do Marandu do que do Xaraés, em condições de crescimento livre.

Euclides et al. (2008) estudaram a produção de forragem e características da estrutura do dossel de cultivares de *B. brizantha* e concluíram que os capins Xaraés e Piatã são bem adaptados aos solos do Cerrado e são excelentes alternativas para a diversificação das pastagens na região. Também relataram que o cultivar Piatã apresentou menor relação lâmina

foliar: colmo no período das águas, enquanto o capim-xaraés apresentou relação menor no período das secas, sugerindo variados manejos para esses cultivares.

2.2 Nitrogênio na planta

2.2.1 Metabolismo do nitrogênio

O nitrogênio é absorvido pelas plantas nas formas de nitrato (NO_3^-) ou amônio (NH_4^+), sendo o nitrato preferencial para grande parte das culturas (CRAWFORD, 1995). A absorção do nitrato ocorre por processo ativo, contra um potencial eletroquímico, onde há o transporte simultâneo de NO_3^- e H^+ para dentro das células (FERNANDES; ROSSIELLO, 1998).

Para que o nitrogênio seja assimilado pelas plantas ocorrem dois estágios sequenciais de redução do nitrato. A primeira etapa é a redução do nitrato a nitrito, que ocorre no citosol da célula. Essa reação catalisada pela redutase do nitrato utiliza energia redutora na forma de NADH ou NADPH como doador dos dois elétrons necessários à reação (MARSCHNER, 1995). A forma mais comum da redutase do nitrato utiliza somente NADH como doador de elétrons, enquanto outra forma da enzima, encontrada predominantemente em tecidos não clorofilados, como raízes, pode usar tanto o NADH quanto o NADPH (WARNER; KLEINHOFS, 1992). Num segundo estágio da redução, o nitrito é reduzido a amônio pela redutase do nitrito, nos cloroplastos dos tecidos verdes ou nos plastídios de raízes (VAUGHN; CAMPBELL, 1988), numa reação que envolve a transferência de seis elétrons doados pela ferredoxina. A partir do amônio há a incorporação do nitrogênio ao glutamato, pela ação da enzima glutamina sintetase (GS) formando a glutamina. Os níveis elevados de glutamina nos plastídeos estimulam a atividade da enzima glutamina 2-oxo-glutarato aminotransferase (GOGAT), que transfere o grupo amida da glutamina para o 2-oxo-glutarato, produzindo duas moléculas de glutamato e posteriormente os demais aminoácidos (MARSCHNER, 1995). Esses são as unidades básicas na formação de proteínas, as quais participam dos processos metabólicos das plantas, tendo papel funcional e estrutural (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Além de fazer parte da estrutura dos aminoácidos responsáveis pela formação das proteínas, o nitrogênio é componente de ácidos nucleicos, integrante da clorofila e de várias enzimas, dentre a qual se destaca a Ribulose 1,5-Bisfosfato Carboxilase/Oxigenase (Rubisco) responsável pela fixação de carbono durante a fotossíntese, além de atuar na formação de metabólitos secundários, coenzimas e fitohormônios (WHITEHEAD, 2000).

Quando o nitrogênio é absorvido pelas raízes na forma reduzida (NH_4^+) ele pode ser armazenado no vacúolo ou ser rapidamente incorporado a compostos orgânicos, uma vez que elevadas quantidades de amônio são tóxicas às plantas, pois o NH_4^+ dissipa o gradiente transmembranar de prótons necessário ao transporte de elétrons tanto no processo fotossintético quanto respiratório (TAIZ; ZEIGER, 2009). Quando absorvido na forma de amônio, a assimilação do nitrogênio exige um gasto energético cinco vezes menor do que quando a planta absorve o nitrogênio na forma de nitrato (FAGERIA, 2009).

A redutase do nitrato é inibida pelo escuro e pela presença de íons Mg^{2+}, que estimulam a fosforilação de resíduos de serina integrantes da enzima. Essa fosforilação resulta na atração de uma proteína (14-3-3) que impede a passagem de elétrons via enzima, tornando-a inativa. A inibição da enzima também ocorre pelos produtos finais da reação (asparagina e glutamina), numa regulação por *feed back* negativo (CRAWFORD et al., 2000). Contrariamente, a ativação da enzima ocorre por processos estimulados pela luz e pelos carboidratos gerados na fotossíntese, que desfosforilam a proteína 14-3-3, permitindo a passagem de elétrons via enzima, e consequentemente, tornando-a ativa. Concomitantemente, a enzima também é estimulada pela presença de nitrato (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Em muitas espécies a redutase do nitrato ocorre tanto nas raízes quanto nas folhas, sendo a sua distribuição dependente de condições ambientais. Entretanto, sabe-se que algumas espécies apresentam quase que a totalidade dessa enzima nas raízes [como *Trifolium repens* (trevo branco)] enquanto outras expressam a redutase do nitrato quase que exclusivamente nas folhas [como *Xanthium* sp. (carrapicho)] (CRAWFORD et al., 2000). De acordo com Marschner (1995), quando a quantidade de nitrato disponível é pequena, muitas plantas realizam a redução do nitrato nas raízes e à medida que a disponibilidade de nitrato aumenta, maior proporção do mesmo é transportada e assimilada na parte aérea. Segundo Nambiar, Rego e Rao (1988), em espécies tropicais e subtropicais, a redução do nitrato ocorre principalmente na parte aérea, independente da concentração externa desse íon. A maior atividade da redutase do nitrato é encontrada em estágios iniciais do desenvolvimento das plantas, enquanto a atividade dessa enzima é reduzida durante a senescência (SOUZA; FERNANDES, 2006).

2.2.2 Nitrogênio em plantas forrageiras

O nitrogênio é extremamente importante para a produtividade de gramíneas forrageiras, pois é responsável por características como o tamanho das folhas e colmos, além do aparecimento e desenvolvimento dos perfilhos, fatores que estão diretamente relacionados

à produção de massa seca pela planta forrageira (CORSI, 1984; WERNER, 1986). Segundo Ribeiro (1995), a utilização da adubação nitrogenada estimula o crescimento mais rápido das plantas forrageiras possibilitando colheitas mais frequentes da forragem.

A resposta da pastagem à aplicação de fertilizantes nitrogenados em uma região específica depende principalmente do suprimento de nitrogênio no solo e das condições climáticas (WHITEHEAD, 2000). Segundo o mesmo autor, inicialmente há resposta linear da adubação nitrogenada na produção de massa seca da forragem até um ponto a partir do qual a produção de massa seca se estabiliza, podendo até diminuir. A resposta real durante a fase linear no aumento de produção de massa seca depende de vários fatores, como: fornecimento de nitrogênio, condições climáticas, disponibilidade de água e suprimento de outros nutrientes (como, por exemplo, o enxofre).

Respostas positivas, nos parâmetros produtivos e nutricionais, à adubação nitrogenada pelas gramíneas forrageiras, foram apresentadas por Carvalho et al. (1991) para *Brachiaria decumbens* e por Primavesi et al. (2005), Rodrigues et al. (2006) e Costa et al. (2008) para *Brachiaria brizantha*. Dourado et al. (2009) concluíram que a adubação nitrogenada promoveu aumento na produção de massa seca do capim-piatã e relataram que a dose de nitrogênio de 411 kg ha^{-1} produziu 36; 9; 0,5 e 3% mais massa seca do que as doses de 125, 250, 375 e 500 kg ha^{-1}, respectivamente.

O aumento na taxa de aparecimento de perfilhos tem sido associado, em diversos trabalhos, com o incremento no fornecimento de nitrogênio às plantas forrageiras, e este tem efeito direto no aumento da produção de massa seca das plantas (CORRÊA, 1996; COLOZZA, 1998; LAVRES JUNIOR; MONTEIRO, 2003; ALEXANDRINO et al., 2005). Abreu (1994) relatou aumentos no número de perfilhos, na produção de massa seca da parte aérea e na concentração de nitrogênio total na parte aérea e nas raízes das plantas como consequência do fornecimento de doses de nitrogênio ao capim-marandu.

A produção de massa seca da parte aérea e de raízes, a área foliar, o número de folhas verdes expandidas, o número de perfilhos, a taxa de aparecimento de folhas e filocrono do capim-aruana (*Panicum maximum* cv. Aruana) foram influenciados pelas doses de nitrogênio de 1 a 33 mmol L^{-1} fornecidas na solução nutritiva por Lavres Junior et al. (2004).

Em relação ao crescimento de raízes, Marschner (1995) descreveu que o suprimento de nutrientes altera sensivelmente o desenvolvimento das raízes das plantas, acrescentando que o efeito é mais marcante para o fornecimento de nitrogênio. Quando a planta se encontra em ambiente com baixa concentração de nitrogênio, grande parte da massa seca total fica alocada nas raízes (HILL et al., 2006), o que ocasiona mudanças na forma do sistema

radicular. Segundo Fitter (1996) e Lavres Junior e Monteiro (2003), em condição de baixo fornecimento de nutrientes, a planta produz raízes muito finas, o que resulta em maior comprimento específico, menor produção de massa seca e menor volume de raízes.

Batista e Monteiro (2006b) estudaram o sistema radicular do capim-marandu em função do fornecimento de combinações de doses de nitrogênio e de enxofre em solução nutritiva. Concluíram que as doses de nitrogênio foram determinantes para comprimento, superfície, produção de massa seca e relação comprimento x massa seca do sistema radicular dessa gramínea forrageira. Ainda relataram que a concentração de nitrogênio nas raízes variou de 2,4 a 29,5 g kg^{-1} e à medida que aumentaram as doses de nitrogênio, para mesma dose de enxofre, ocorreu incremento na concentração de nitrogênio nas raízes.

Martuscello et al. (2005), estudando as características morfogênicas e estruturais do capim-xaraés (*Brachiaria brizantha* cv. Xaraés) submetido a doses de nitrogênio e regimes de desfolhação, concluíram que o nitrogênio teve efeito nas características morfogênicas e estruturais e na produção de massa seca da parte aérea do capim. No entanto, não observaram respostas na massa seca das raízes ao aumento das doses de nitrogênio.

2.2.3 Avaliação do estado nutricional dos tecidos vegetais em relação ao nitrogênio

O nitrogênio é o elemento mineral que as plantas usualmente absorvem em maiores quantidades e que estimula o crescimento e o desenvolvimento de folhas, colmos e raízes, promovendo maior absorção de outros nutrientes. Em geral, a concentração de nitrogênio nos tecidos vegetais varia de 10 a 50 g kg^{-1}. Por ser um nutriente móvel, a deficiência nas plantas provoca o aparecimento de sintomas primeiramente nas folhas velhas, nas quais se verifica inicialmente a clorose (MARSCHNER, 1995; TAIZ; ZEIGER, 2009). Outros sintomas de deficiência de nitrogênio podem incluir dormência de gemas laterais, redução do perfilhamento e senescência precoce da planta (MALAVOLTA, 2006).

Dentre os métodos frequentemente utilizados para avaliação do estado nutricional de um nutriente nas plantas incluem-se a diagnose visual e a análise química do tecido vegetal. Também são utilizados a determinação indireta do teor de clorofila nas folhas (valor SPAD), métodos bioquímicos (como a atividade da enzima redutase do nitrato) e a relação com outros nutrientes (como nitrogênio total:enxofre total). Essas avaliações têm como implicações a determinação de deficiências nutricionais e o diagnóstico da necessidade de suprimentos às culturas (LAVRES JUNIOR; MONTEIRO, 2006).

A diagnose visual tem grande desvantagem comparada à análise química de plantas, pois os sintomas, principalmente de deficiência, se manifestam a partir de concentrações no

tecido foliar que resultam em menor produtividade das culturas (BATAGLIA, 1995). Segundo o mesmo autor, a concentração de determinado nutriente no tecido vegetal permite a obtenção de diagnósticos mais confiáveis, devido à relação básica existente entre essa concentração e a produtividade das plantas.

Rotineiramente, a avaliação do estado nutricional das plantas com relação ao nitrogênio é feita pela concentração total de nitrogênio nos tecidos vegetais, determinado a partir da digestão sulfúrica. A concentração de nitrogênio em formas solúveis, como de nitrato, também pode ser utilizada. Segundo Martin e Matocha (1973), a concentração de nitrato é o indicador mais sensível do estado nutricional da planta, além de apontar o risco de toxicidade de nitrato em forragens destinadas à alimentação animal, uma vez que os animais não toleram elevadas concentrações de nitrato na dieta.

As determinações da concentração total de nitrogênio ou de nitrogênio na forma inorgânica de nitrato são seguras e apresentam boa precisão. Contudo, ambas as determinações são baseadas em técnicas destrutivas, realizadas em laboratório, o que impede a utilização para predizer deficiências de nitrogênio em campo, de forma momentânea.

Uma possibilidade utilizada para predizer o estado nutricional de nitrogênio, frequentemente utilizada, é a estimativa do teor de clorofila nas folhas, realizada pelo uso do medidor SPAD-502 Minolta®, denominado clorofilômetro (LAVRES JUNIOR; MONTEIRO, 2006). Isso é possível devido à correlação positiva existente entre a quantidade desse pigmento e a concentração de nitrogênio na planta, como demonstrado por vários trabalhos com gramíneas, como no caso de arroz (*Oryza sativa*) (PENG et al., 1993), trigo (*Triticum aestivum)* (REEVES et al., 1993; BREDEMEIER, 1999), milho (*Zea mays*) (BLACKMER; SCHEPERS, 1995; ARGENTA; SILVA; BORTOLINI, 2001) e plantas forrageiras (LAVRES JUNIOR; MONTEIRO, 2006; ARTUR, 2010).

O valor SPAD é uma maneira rápida, não destrutiva e prática de se obter um indicativo nutricional do nitrogênio nas plantas. O equipamento utilizado para avaliação tem a vantagem de ser portátil e de fácil utilização, podendo, inclusive, ser levado ao campo para tomada de medidas na lavoura (DECHEN; NAVA; BATAGLIA, 2007). Em contrapartida, as leituras de valor SPAD só podem ser comparadas com aquelas geradas pela relação entre o valor SPAD e a concentração de nitrogênio nas mesmas condições, uma vez que a concentração de nitrogênio, e consequentemente, os valores SPAD variam conforme o estádio de desenvolvimento das culturas (ABREU; MONTEIRO, 1999).

A relação entre valor SPAD e concentração de nitrogênio no tecido vegetal pode ser linear até que o nitrogênio não seja mais assimilado e seja acumulado na forma de nitrato,

estabilizando a intensidade da cor verde, de forma a refletir o acúmulo de nitrato (ABREU; MONTEIRO, 1999). Por apresentar baixa sensibilidade ao consumo de luxo de nitrogênio, sob a forma de nitrato, a medição efetuada pelo medidor de clorofila tem sido considerada melhor indicadora do nível desse nutriente na planta do que a própria concentração do elemento no tecido vegetal (BLACKMER; SCHEPERS, 1995).

O uso de métodos bioquímicos, como a determinação da atividade da redutase do nitrato, se baseia no fato de que, havendo a deficiência de um nutriente, os processos metabólicos nos quais esse nutriente participa são reduzidos (DECHEN; NAVA; BATAGLIA, 2007). Como já abordado, a redutase do nitrato é a enzima responsável pela primeira etapa de redução do nitrogênio absorvido na forma de nitrato pelas plantas. Teoricamente a redução na atividade dessa enzima está associada à menor disponibilidade de nitrogênio para a planta. Em diversos trabalhos foi relatada a correlação positiva entre o aumento da atividade da enzima com o incremento no fornecimento de nitrogênio no substrato (CORRÊA, 1996; CAZETTA; VILLELA, 2004; LAVRES JUNIOR; MONTEIRO, 2006).

2.3 Enxofre na planta

2.3.1 Metabolismo do enxofre

A principal rota de absorção do enxofre é pelas raízes, na forma aniônica de sulfato (SO_4^{2-}), via fluxo de massa, mas as plantas podem obter quantidades apreciáveis de enxofre na forma de SO_2 atmosférico, através dos estômatos das folhas (WHITEHEAD, 2000). A absorção do SO_4^{2-} é aparentemente reduzida pela presença de cloreto (Cl^-) em excesso (VITTI; LIMA; CICARONE, 2006). Após ser absorvido pelas raízes, grande parte do sulfato é transportado pelo xilema para a parte aérea da planta, onde é incorporado em formas orgânicas.

De modo semelhante ao que ocorre com o nitrogênio, o enxofre absorvido pela planta na forma de sulfato, é reduzido e incorporado no aminoácido cisteína, antes de fazer parte de outros aminoácidos, proteínas e coenzimas (TAIZ; ZEIGER, 2009). Geralmente as folhas são mais ativas do que as raízes na assimilação de enxofre, porque a fotossíntese fornece tiorredoxina e ferredoxina reduzidas, que são utilizadas como doadoras de elétrons necessários à redução (EPSTEIN; BLOOM, 2005).

O processo de assimilação do enxofre é dividido em três passos: ativação, redução a sulfeto e incorporação do sulfeto à cisteína (CRAWFORD et al., 2000). Como o sulfato é muito estável ele precisa ser ativado para que as reações subsequentes possam ocorrer e o início das etapas se dá com a ativação do enxofre-sulfato pela enzima ATP sulfurilase, formando adenosina-5-fosfosulfato (APS). A atividade dessa enzima é regulada por fatores externos, como a luz, e internos, como a disponibilidade do sulfato no substrato (MARSCHNER, 1995). A APS é então reduzida por meio de duas enzimas (redutase do APS e redutase do sulfito) a sulfeto, que posteriormente é incorporado na *O*-acetilserina (AOS) por ação da enzima OAS-tiol-liase para formar acetato e cisteína (TAIZ; ZEIGER, 2009). A partir da cisteína são sintetizados metionina e cistina, que são precursores da síntese de coenzimas, ferredoxina e metabólitos secundários como glutationa, fitoquelatina, glucosinolatos, tioredoxina e aliinas (MARSCHNER, 1995). A APS também pode seguir uma via alternativa ao ser fosforilada pela enzima APS quinase, formando 3 fosfoadenosina 5-fosfosulfato (PAPS), um doador de sulfato ativado para muitas reações de sulfatação (TAKAHASHI et al., 2011).

Esse macronutriente participa da composição de aminoácidos sulfurados (metionina, cisteína e cistina), proteínas, enzimas (como a nitrogenase), ferredoxina (importante no transporte de elétrons durante a fotossíntese), de vitaminas (biotina e tiamina), da glutationa (importante antioxidante da planta), da coenzima A (atuante no metabolismo de carboidratos e lipídeos), de óleos glicosídeos e compostos voláteis (MARSCHNER, 1995).

2.3.2 Enxofre em plantas forrageiras

A preocupação com a utilização de enxofre nos programas de adubação vem se tornando mais intensa nas décadas mais recentes, principalmente nas regiões mais industrializadas, onde deficiências de enxofre em diversas culturas agrícolas, incluindo as pastagens, vem sendo frequentemente relatadas (MURPHY; BOGGAN, 1988; MURPHY et al., 2002). Isso vem ocorrendo devido ao controle da poluição ambiental, que se torna cada vez mais acentuado, diminuindo o suprimento de enxofre para a planta via atmosfera (LEWANDOWSKA; SIRKO, 2008). Além disso, a utilização de fertilizantes cada vez mais concentrados, que acabam tendo menos enxofre na composição do que as fontes de sulfato de amônio e superfosfato simples e a tendência de maiores rendimentos das pastagens, acabam diminuindo a quantidade de enxofre nos solos disponíveis às plantas (BROWN et al., 2000). Dessa forma, a resposta das pastagens à fertilização com enxofre é maior em solos de textura

média, em áreas com pouca poluição atmosférica (WHITEHEAD, 2000; MATHOT et al., 2008), o que é o caso de muitos solos de pastagens brasileiras, principalmente no cerrado.

Apesar de muitas vezes ser negligenciado nos programas de adubação adotados por produtores agropecuários, o enxofre também tem comprovada contribuição no aumento da produção de gramíneas forrageiras (MONTEIRO; CARRIEL, 1987; SANTOS; MONTEIRO, 1999; KALMBACHER et al., 2005). Monteiro e Ono (1995) constataram significativos incrementos na produção de massa seca da parte aérea e das raízes da *Brachiaria brizantha*, como consequência do suprimento de doses de enxofre em solução nutritiva.

Marques et al. (1995) observaram que a omissão de enxofre não interferiu no rendimento total de massa seca da parte aérea da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu quando cultivada na microrregião Campos da Mantiqueira- MG. Entretanto, Monteiro et al. (1995) observaram, no mesmo capim, reduções significativas na produção de massa seca e na altura de plantas no tratamento em que se omitiu enxofre, quando comparado ao tratamento completo. Santos (1997) também relatou limitação na produção de massa seca do capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*), em condições de baixa disponibilidade de enxofre.

Santos e Monteiro (1999), trabalhando com *Brachiaria decumbens* e doses de enxofre, observaram que o perfilhamento foi alterado significativamente pelas doses de enxofre apenas no segundo crescimento das plantas e que as doses de enxofre de 64 e 80 mg L^{-1} não diferiram entre si, mas tiveram número de perfilhos superior ao das doses mais baixas de enxofre. As gramíneas forrageiras respondem à adubação com enxofre, contudo a probabilidade de resposta é maior quando altas doses de nitrogênio também são aplicadas (WHITEHEAD, 2000).

2.3.3 Avaliação do estado nutricional dos tecidos vegetais em relação ao enxofre

O requerimento nutricional da maioria das plantas é atendido com concentrações de enxofre na massa seca vegetal entre 1 e 5 g kg^{-1} (MARSCHNER, 1995). Embora seja o macronutriente encontrado frequentemente em menores concentrações na planta, o enxofre atua em diversas rotas fisiológicas e bioquímicas que governam o aproveitamento dos demais nutrientes, especialmente do nitrogênio (KOPRIVA; RENNENBERG, 2004).

Plantas deficientes em enxofre têm interrompida a síntese de proteínas uma vez que esse elemento participa da composição de aminoácidos essenciais à planta e, na ocorrência dessa deficiência, o crescimento é retardado. A deficiência de enxofre provoca reduções no tamanho e no número de células foliares, resultando em menor área foliar (MARSCHNER, 1995).

O enxofre é pouco móvel na planta, de tal forma que os pontos de crescimento sofrem primeiro quando a concentração de enxofre não é adequada para atingir a demanda da cultura, e a manifestação visual se dá por clorose foliar (MALAVOLTA, 2006). Sintomas de deficiência de enxofre, como retardamento no florescimento e redução no número de inflorescências e de sementes, têm sido detectados em plantas forrageiras (MONTEIRO; COLOZZA; WERNER, 2004).

A avaliação do estado nutricional das plantas em relação ao enxofre é feita pela determinação da concentração total do nutriente após digestão nítrico-perclórica. Entretanto, a concentração de enxofre total nas plantas é afetada por variações estacionais, estágios de desenvolvimento e interações com outros nutrientes (KLIEMANN; MALAVOLTA, 1994). Desta forma, outros métodos de avaliação vêm sendo sugeridos. Dentre eles podem ser citados: enxofre na forma de sulfato, relação enxofre-sulfato:enxofre total e relação nitrogênio total:enxofre total (Nt:St). A concentração total de enxofre e a relação Nt:St são os indicadores mais comumente utilizados (MATHOT; THÉLIER-HUCHÉ; LAMBERT, 2009).

O sulfato (SO_4^{2-}), se presente em grande quantidade, acumula-se nas plantas deficientes em nitrogênio, uma vez que ele passa a não ser incorporado às proteínas devido à falta relativa de nitrogênio necessário a tal incorporação (GOH; KEE, 1978). Por outro lado, plantas deficientes em enxofre apresentam concentrações de SO_4^{2-} extremamente baixas e a concentração de sulfato é facilmente recuperada quando se fornece enxofre à planta (VITTI; LIMA; CICARONE, 2006). Dessa forma, a relação enxofre-sulfato:enxofre total é considerada um bom indicador de deficiência desse nutriente (FRENEY; SPENCER; JONES, 1978).

O valor SPAD, muito utilizado para avaliação nutricional do nitrogênio, pode também correlacionar-se com a concentração de enxofre no tecido foliar (SANTOS, 1997; BATISTA, 2002), visto que o enxofre está envolvido na síntese da clorofila e na fotossíntese, como componente das ferredoxinas e tioredoxinas (MALAVOLTA, 2006).

A relação Nt:St é utilizada para avaliação do estado nutricional das plantas, pois as funções do enxofre estão intimamente ligadas ao metabolismo do nitrogênio (VITTI; TREVISAN, 2000). Baixos valores da relação Nt:St, indicam maior deficiência de nitrogênio que de enxofre, e vice-versa (BONFIM-DA-SILVA; MONTEIRO, 2010). Contudo, o decréscimo na concentração de nitrogênio ao longo do desenvolvimento das plantas, é mais acentuado do que o de enxofre, e por isso, a relação Nt:St tende a diminuir com o envelhecimento da planta (CORSI; GOULART; ANDREUCCI, 2007).

Werner e Monteiro (1988), por meio de vários trabalhos da resposta das pastagens à aplicação de enxofre, demonstraram que dependendo da espécie e do suprimento de enxofre, a relação Nt:St nas plantas forrageiras pode variar de 12:1 a 19:1 em condições adequadas de nutrição. Segundo Monteiro e Carriel (1987), quando a planta atinge a maturidade, a relação Nt:St tende a se estabilizar ao redor de 14:1 nas gramíneas, sendo que a relação Nt:St de 20:1, ou mais larga, revela deficiência de enxofre.

2.4 Nitrogênio x enxofre em plantas forrageiras

As assimilações de nitrogênio e enxofre pelas plantas são bem coordenadas, sendo que a deficiência de um elemento reprime a via assimilatória do outro (EPSTEIN; BLOOM, 2005). A carência de nitrogênio nas plantas prejudica a síntese de clorofila, aminoácidos e proteínas (MARSCHNER, 1995) e a presença de enxofre aumenta a eficiência da transformação do nitrogênio mineral absorvido em proteína vegetal (CRAWFORD et al., 2000). A maior parte tanto do nitrogênio quanto do enxofre nas plantas está na forma de proteínas e, em média, as proteínas contêm 15,5 a 18% de nitrogênio e 0,5 a 2,0% de enxofre (MAYNARD et al., 1979). Assim, o desbalanço entre nitrogênio e enxofre na planta reflete-se na síntese de proteína.

Além de restringir a síntese de proteínas, em diversos estudos foi constatada a redução na atividade da enzima redutase do nitrato sob condições de limitação de enxofre às plantas, o que culminou em incremento da concentração de nitrato no tecido vegetal (FRIEDRICH; SCHRADER, 1978; GIORDANO; PEZZONI; HELL, 2000; PROSSER et al., 2001).

Embora as adubações isoladas com nitrogênio e enxofre promovam respostas positivas na produção de diversas espécies de capins, tem-se verificado que esses efeitos benéficos podem ser potencializados pela aplicação simultânea de nitrogênio e de enxofre em proporção adequada (BROWN et al., 2000; BONFIM-DA-SILVA, 2005; KALMBACHER et al., 2005; MATHOT et al., 2008; BATISTA e MONTEIRO, 2008).

Werner e Monteiro (1988) relataram que as pastagens com deficiência de nitrogênio respondem muito pouco ao enxofre. Por outro lado, em alta disponibilidade de nitrogênio para as plantas a exigência por enxofre é maior, uma vez que este nutriente é importante no metabolismo do nitrogênio e na síntese de proteína.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização do experimento e espécie forrageira

O experimento foi conduzido em casa de vegetação (Figura 1) em Piracicaba, Estado de São Paulo, no período de setembro a dezembro de 2011 e estudando a *Brachiaria brizantha* cultivar Piatã.

Figura 1 - Vista geral do experimento com capim-piatã conduzido em casa de vegetação, em solução nutritiva

3.2 Doses de nitrogênio e enxofre, delineamento experimental e solução nutritiva

Foram testadas as combinações resultantes de cinco doses de nitrogênio (2; 9; 16; 23 e 30 mmol L^{-1}) com cinco doses de enxofre (0,1; 0,7; 1,3; 1,9 e 2,5 mmol L^{-1}), em esquema fatorial 5^2 fracionado, fundamentado em Littell e Mott (1975) e perfazendo o total de 13 combinações, assim definidas, para nitrogênio e enxofre (ambos em mmol L^{-1}): 2/0,1; 2/1,3; 2/2,5; 9/0,7; 9/1,9; 16/0,1; 16/1,3; 16/2,5; 23/0,7; 23/1,9; 30/0,1; 30/1,3 e 30/2,5, conforme esquematizado na Figura 2. Os vasos foram distribuídos conforme o delineamento estatístico de blocos ao acaso, com quatro repetições.

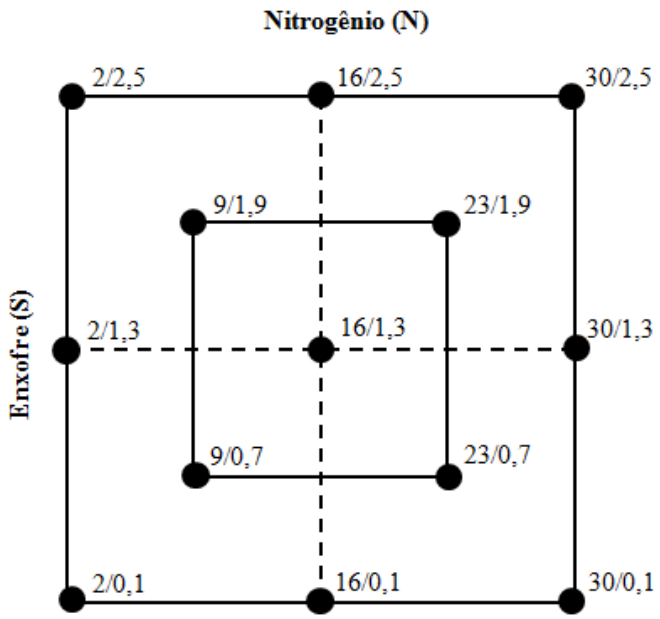


Figura 2 - Esquema do fatorial 5^2 fracionado, mostrando as 13 combinações utilizadas no experimento

Foi utilizada a solução nutritiva completa de Hoagland e Arnon (1950), modificada para atender as doses de nitrogênio e de enxofre, como mostrado na Tabela 1. Nas doses de nitrogênio foi utilizada a proporção de 70% nitrato:30% amônio, em função de resultados anteriores em estudos com gramíneas forrageiras por Abreu (1994), Monteiro et al. (1995) e Santos (2003). Considerando também resultados relatados por Pereira (2001), Mattos et al. (2002), Consolmagno Neto et al. (2007) e Megda (2009), a concentração de potássio utilizada na solução nutritiva foi de 8 mmol L^{-1}, ao invés de 6 mmol L^{-1} (como na solução original de HOAGLAND; ARNON, 1950).

3.3 Instalação e condução do experimento

No dia 20 de setembro de 2011 realizou-se a semeadura da gramínea forrageira em bandejas plásticas contendo areia lavada com água de torneira e água desionizada. A areia foi periodicamente regada com água desionizada e, treze dias após a semeadura, quando as plântulas atingiram aproximadamente quatro centímetros de altura, foram transplantadas 15 mudas para cada vaso. Utilizaram-se vasos de plástico com volume de 3,6 litros, os quais foram preenchidos com sílica (quartzo moído) como substrato.

Logo após o transplante das mudas e durante o período de quatro dias, foi aplicado em cada vaso um litro de solução diluída a 20% da dose correspondente a cada combinação de dose de nitrogênio e enxofre, para adaptação das plantas ao fornecimento de nutrientes.

Durante esse período procedeu-se a circulação da solução nutritiva cinco a seis vezes por dia, para estabelecer adequadamente as mudas e evitar problemas com deficiência de ferro.

Tabela 1 - Volumes das soluções estoque empregadas no preparo das soluções nutritivas para as combinações de nitrogênio e enxofre

Nitrogênio (mmol L^{-1})	**2**	**2**	**2**	**9**	**9**	**16**	**16**	**16**	**23**	**23**	**30**	**30**	**30**
Enxofre (mmol L^{-1})	**0,1**	**1,3**	**2,5**	**0,7**	**1,9**	**0,1**	**1,3**	**2,5**	**0,7**	**1,9**	**0,1**	**1,3**	**2,5**
Soluções estoque*	Volume (mL L^{-1})												
KH_2PO_4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
$MgSO_4$	0,1	1,3	2,0	0,7	1,9	0,1	1,3	2,0	0,7	1,9	0,1	1,3	2,0
KNO_3	0,8	0,8	0,8	3,6	3,6	6,4	6,4	6,4	7	7	7	7	7
NH_4NO_3	0,6	0,6	0,6	2,7	2,7	4,8	4,8	4,8	6,9	6,9	9	9	9
$Ca(NO_3)_2$	-	-	-	-	-	-	-	-	1,1	1,1	2,5	2,5	2,5
$MgCl_2$	1,9	0,7	-	1,3	0,1	1,9	0,7	-	1,3	0,1	1,9	0,7	-
$CaSO_4.2H_2O$	-	-	50	-	-	-	-	50	-	-	-	-	50
$CaCl_2$	5	5	4,5	5	5	5	5	4,5	3,9	3,9	2,5	2,5	2
KCl	6,2	6,2	6,2	3,4	3,4	0,6	0,6	0,6	-	-	-	-	-
Micro – Fe**	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Fe – EDTA***	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

* Com exceção das soluções de $CaSO_4.2H_2O$ (0,01 mol L^{-1}) e de micronutrientes, as soluções estoque tiveram concentração de 1 mol L^{-1}.

** A solução com micronutrientes menos ferro, teve a seguinte composição, em g L^{-1}: H_3BO_3 = 2,86; $MnCl_2.4H_2O$ = 1,81; $ZnCl_2$ = 0,10; $CuCl_2$ = 0,04 e $H_2MoO_4.H_2O$ = 0,02.

*** Dissolveram-se 26,1 g de EDTA dissódico em 286 mL de NaOH 1 mol L^{-1}, misturando-se 24,0 g de $FeSO_4.7H_2O$, arejando-se por uma noite e completando-se a 1 L com água desionizada.

Desbastes das plantas foram realizados no período em que as mesmas estavam recebendo a solução nutritiva diluída a 20%, até que restaram cinco mudas homogêneas por vaso. A partir do quinto dia após o transplante passou-se a utilizar a solução correspondente a cada combinação das doses nitrogênio x doses de enxofre, sendo cada solução circulada três vezes ao dia para permitir adequada aeração das raízes. As soluções foram drenadas no fim de cada dia para recipientes de vidro escuro com capacidade de um litro e fornecidas novamente pela manhã, quando se completou o volume com água desionizada. A renovação total das soluções foi realizada a cada 14 dias.

3.4 Condições climáticas

Durante o período experimental os dados de temperatura (°C) e umidade relativa (%) foram monitorados na casa de vegetação, com o auxílio de um micro data "logger" (NOVUS® series Pinguim). O aparelho registrou leituras diárias a cada meia hora e a partir dessas leituras foram obtidas as médias para temperatura e umidade relativa, cujos valores encontram-se na Figura 3. O dia em que as mudas foram transplantadas para os vasos foi identificado na Figura 3 como dia 1.

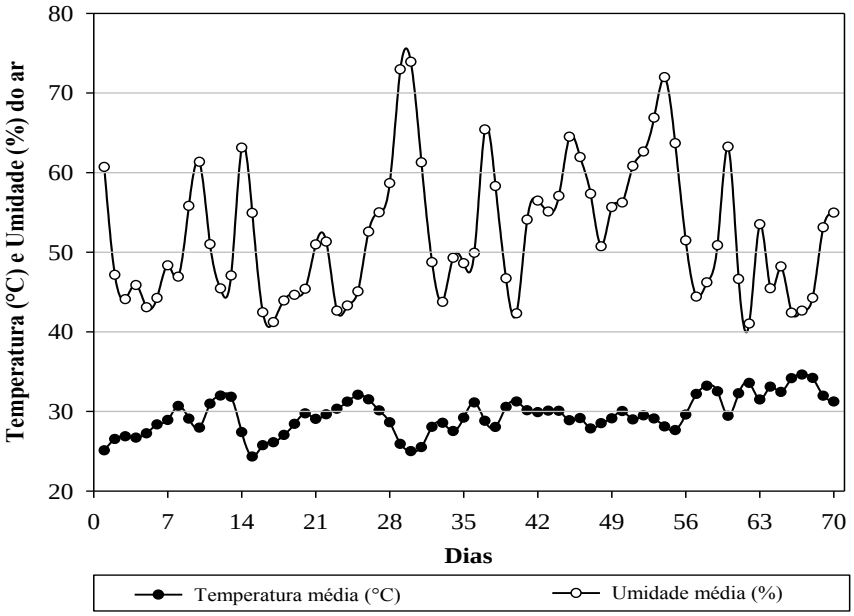


Figura 3 - Valores médios diários de temperatura (°C) e de umidade (%) na casa de vegetação durante o período de condução do experimento

3.5 Corte das plantas

As plantas de capim-piatã foram cultivadas em dois ciclos de crescimento. O primeiro corte das plantas ocorreu 44 dias após o transplante das mudas e o segundo corte aos 25 dias após o primeiro. Ambos os cortes foram realizados quando as folhas maduras dos vasos em estado fisiológico mais avançado iniciaram o processo de senescência. O primeiro corte foi realizado a oito centímetros de altura do colo das plantas e o segundo corte rente ao colo das plantas.

Em cada corte das plantas, a parte aérea foi separada em: a) folhas emergentes (FE), ou seja, as folhas não completamente expandidas; b) lâminas de folhas recém-expandidas (LR), ou seja, lâminas das duas folhas mais jovens totalmente expandidas, com lígula visível, também designadas folhas diagnósticas; c) lâminas de folhas maduras (LM) ou seja lâminas das demais folhas totalmente expandidas e d) colmos + bainhas (CB): colmos propriamente

ditos e as bainhas que foram mantidas a eles circundadas. A Figura 4 ilustra cada fração separada na parte aérea do capim. Após o segundo corte das plantas realizou-se a separação das raízes do substrato, para as medições radiculares de acordo com Rossielo et al. (1995).

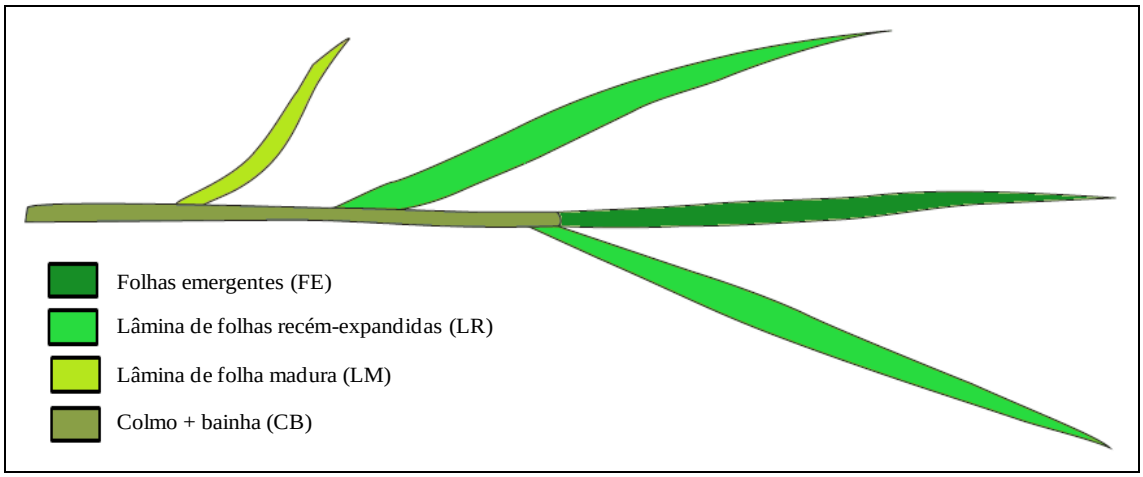


Figura 4 - Esquema de separação da parte aérea do capim-piatã. Fonte: Lange, 2007

Na ocasião de cada corte procedeu-se a determinação da área foliar das plantas e o material foi guardado em sacos de papel identificados, que foram levados para secagem em estufa a 65°C, com circulação forçada de ar, por cinco dias. Após pesagem, as amostras foram moídas em moinho tipo Wiley e utilizadas para as determinações laboratoriais de nitrogênio total, nitrato e amônio, enxofre total e enxofre-sulfato.

3.6 Avaliações

3.6.1 Emissão de folhas e perfilhos

Os números de folhas e perfilhos foram contados a cada três dias durante cada período de crescimento das plantas. Ao serem contadas, as folhas que apresentavam lígula visível foram marcadas com tinta permanente e todos os perfilhos foram contados em cada dia de avaliação. Para obtenção do número total de folhas de cada vaso somaram-se os números das contagens individuais.

3.6.2 Taxa de aparecimento de folhas e filocrono

A taxa de aparecimento de folhas foi calculada pelo quociente entre o número de folhas surgidas por perfilho e o intervalo de tempo entre avaliações (três dias). Calculou-se o filocrono pela inversão (1/x) do valor da taxa de aparecimento de folhas.

3.6.3 Área foliar

A determinação da área foliar ocorreu nas folhas emergentes (FE), lâminas de folhas recém-expandidas (LR) e lâminas de folhas maduras (LM), sendo que a área foliar total em cada unidade experimental foi obtida pela soma dos valores dessas três partes. Essa medida foi realizada no aparelho integrador de área foliar LI-COR@, modelo LI-3100, imediatamente após cada corte das plantas, tomando-se o cuidado de ter as lâminas foliares ainda verdes e turgescentes.

3.6.4 Produção de massa seca

Para a determinação da produção de massa seca da parte aérea utilizou-se a soma das massas de seus componentes (folhas emergentes, lâminas das duas folhas recém-expandidas, lâminas das folhas maduras e colmos mais bainhas) em ambos os cortes da gramínea forrageira. A massa seca das raízes foi obtida após o segundo corte.

3.6.5 Superfície e comprimento radiculares

Após a separação das raízes do substrato, foram coletadas subamostras de aproximadamente 20% da massa fresca total das raízes, de acordo com Rossielo et al. (1995). Essa fração de raízes foi colorida com solução de violeta genciana (50 mg L^{-1}), para que as partes mais novas e claras fossem tingidas. Na sequência, as raízes foram escaneadas e as imagens analisadas pelo aplicativo SIARCS (Sistema Integrado para Análise de Raízes e Cobertura do Solo) versão 3.0, visando as determinações de comprimento e superfície radiculares. Também foi determinada a massa seca das subamostras para calcular o comprimento e superfície radiculares correspondentes a cada unidade experimental, em função da produção total de massa seca das raízes. O comprimento e a superfície específicos foram calculados pela razão entre o comprimento ou a superfície e a correspondente produção de massa seca, de acordo com a metodologia descrita por Crestana et al. (1994).

3.6.6 Atividade da redutase do nitrato

A atividade da enzima redutase do nitrato foi determinada aos 21 dias após o transplantio das mudas e aos 16 dias após o primeiro corte, segundo metodologia descrita por Mulder et al. (1959). Antes da coleta das folhas, as plantas foram levadas para uma câmara de crescimento com condições controladas de luminosidade e temperatura, por duas horas, a fim de proporcionar as mesmas condições às plantas de todas as combinações de doses de

nitrogênio com doses de enxofre e evitar interferências externas. As amostras foram coletadas no terço médio da primeira e/ou segunda lâminas de folhas recém-expandidas, dependendo da quantidade de material existente em cada combinação dose de nitrogênio / dose de enxofre, evitando-se a nervura central das lâminas foliares.

As lâminas foliares foram cortadas em segmentos menores com o auxílio de tesouras, pesadas (200 mg) e colocadas em tubos de ensaio contendo 4 mL de KNO_3 0,25 mol L^{-1} em tampão fosfato. As amostras foram cobertas por papel alumínio e incubadas em banho-maria, por duas horas, à temperatura de 35°C. Após este período de incubação, 1 mL do extrato foi retirado para a determinação do nitrito formado. Adicionou-se 1 mL de ácido sulfanílico em solução com HCl 200 ml L^{-1} para paralisar a reação de redução do nitrato e 1 mL do indicador alfa-naftilamina, que ao reagir com o nitrito desenvolve coloração rósea. As leituras foram realizadas no colorímetro no comprimento de onda de 560 nm e posteriormente foi efetuado o cálculo da concentração de nitrito, com uso de curva padrão.

3.6.7 Valor SPAD

A leitura das unidades SPAD, para avaliação indireta do teor de clorofila, foi efetuada nas duas lâminas foliares completamente expandidas (no sentido do ápice para a base da planta), no terço médio da lâmina, com emprego do clorofilômetro SPAD-502 Minolta® (MINOLTA CAMERA Co., 1989), durante o primeiro e segundo crescimento das plantas. O valor SPAD para cada unidade experimental foi obtido pela média de 10 leituras realizadas em cada vaso, em conformidade com o preconizado por Santos (1997). As leituras SPAD foram realizadas aos 43 dias após o transplante das mudas e 24 dias após o primeiro corte. Os dias de avaliação corresponderam a um dia antes de cada corte das plantas.

3.6.8 Determinação das concentrações de nitrogênio e enxofre (total e inorgânico)

As concentrações totais de nitrogênio e enxofre foram determinadas nas folhas diagnósticas (lâminas das duas folhas recém-expandidas - LR) e nos demais componentes da parte aérea (FE+LM+CB) coletados em ambos os cortes do capim e nas raízes após o segundo corte, conforme metodologia descrita por Sarruge e Haag (1974) e Tabatabai (1982), respectivamente. O nitrogênio foi determinado pelo método analítico semi-micro Kjeldahl, após digestão sulfúrica, destilação e titulação, enquanto a digestão nítrico-perclórica serviu para a preparação do extrato a partir do qual foi determinado o enxofre, pelo método da turbidimetria do cloreto de bário.

As concentrações de nitrogênio na forma inorgânica de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) e de enxofre inorgânico ou livre, na forma de enxofre-sulfato (SO_4^{2-}) foram determinadas nas folhas diagnósticas (LR). A determinação do nitrogênio inorgânico foi realizada segundo metodologia descrita por Tedesco, Volkweiss e Bohnen (1985).

A determinação da concentração de enxofre inorgânico seguiu o procedimento descrito por Sinclair (1974), com algumas modificações. A extração do enxofre-sulfato foi realizada utilizando 1g de massa seca vegetal moída e 25 mL de solução extratora contendo ácido acético glacial, ácido clorídrico e ácido ortofosfórico, seguida de agitação por 30 minutos na velocidade de 200 rpm e temperatura de 25ºC. Após filtração em papel, adicionou-se ao extrato da digestão a solução redutora contendo os ácidos iodídrico, hipofosforoso e fórmico. Essa solução foi colocada em aparato adaptado de Johnson e Nishita (1952) e o sulfeto formado foi destilado e recolhido em solução de acetato de sódio e zinco e quantificado por espectrofotometria a 670 nm, após a adição das soluções de N,N-dimetil-p-sulfato de fenilenodiamina e sulfato de amônio férrico para o desenvolvimento da coloração azulada.

3.6.9 Relações nitrogênio total:enxofre total e enxofre-sulfato:enxofre total

A relação nitrogênio total:enxofre total (Nt:St), entre as concentrações totais de nitrogênio e enxofre, e a relação enxofre-sulfato:enxofre total ($S\text{-}SO_4$:St) foram calculadas com base nos valores determinados dessas concentrações nas folhas diagnósticas coletadas nos dois cortes das plantas.

3.7 Análise estatística

Os resultados foram digitados em planilha eletrônica e as análises estatísticas executadas pelo Statistical Analysis System (SAS, 2004). Inicialmente utilizou-se o teste F e em seguida, nos casos de significância da interação doses de nitrogênio x doses de enxofre, utilizaram-se análises de regressão polinomial (superfície de resposta), por meio do procedimento RSREG. Para as variáveis-respostas nas quais a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre não foi significativa efetuaram-se as análises de regressão (primeiro e segundo grau) para as doses de cada nutriente. Nas equações apresentadas nos resultados adotou-se a utilização de um asterisco (*) para nível de significância de 5% e dois asteriscos (**) para casos onde a significância ocorreu ao nível de 1%.

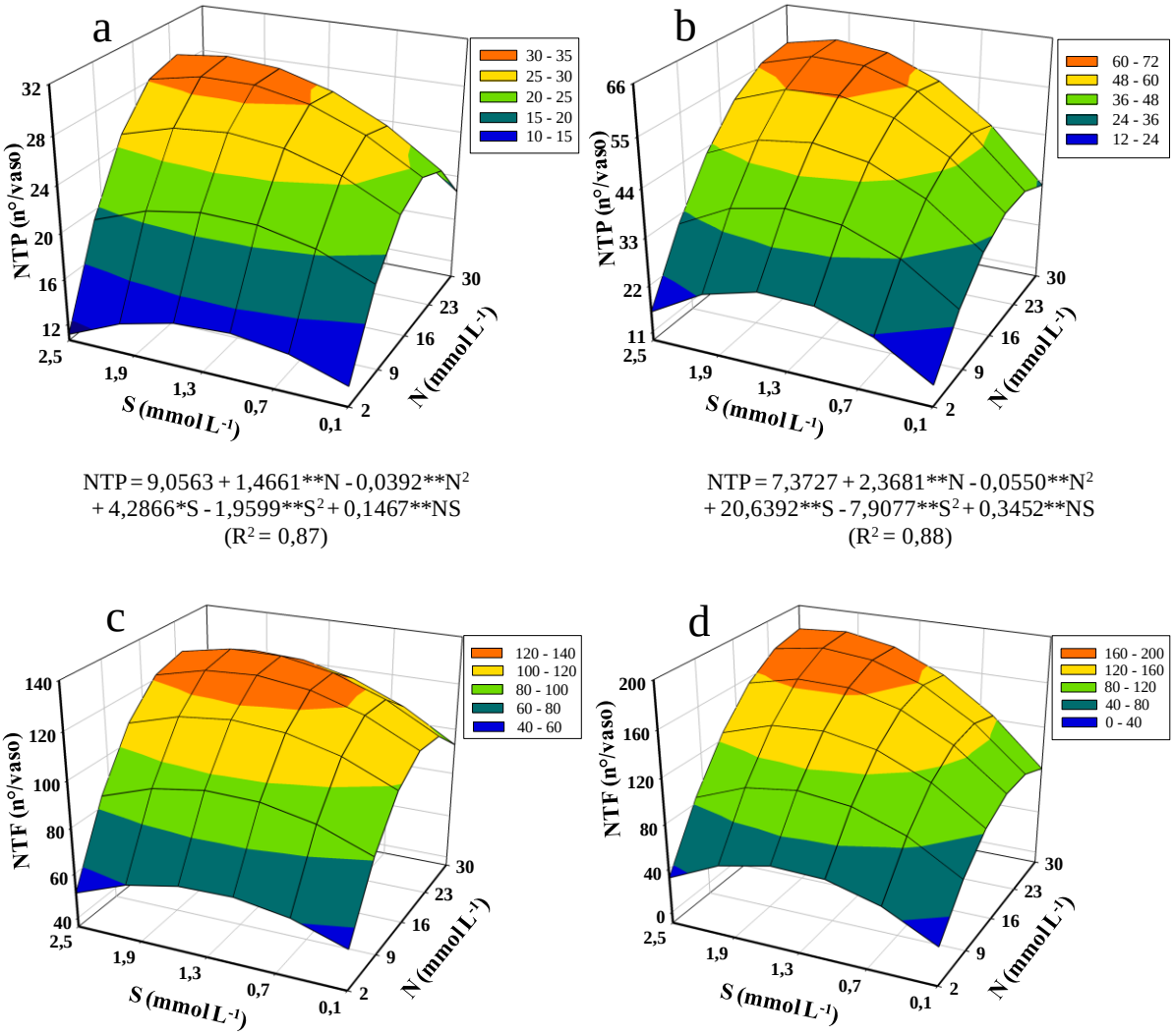
As análises de correlação da concentração de nutrientes e valor SPAD com a produção de massa seca da parte aérea das plantas foram efetuadas com a média de cada combinação das doses de nitrogênio/doses de enxofre.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Alterações morfogênicas e produção das plantas

4.1.1 Número total de perfilhos e folhas

Para os números totais de perfilhos e folhas por vaso, obtidos nos dois períodos de crescimento do capim-piatã, foi significativa a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre (Figura 5).



$NTP = 9{,}0563 + 1{,}4661^{**}N - 0{,}0392^{**}N^2 + 4{,}2866^{*}S - 1{,}9599^{**}S^2 + 0{,}1467^{**}NS$ ($R^2 = 0{,}87$)

$NTP = 7{,}3727 + 2{,}3681^{**}N - 0{,}0550^{**}N^2 + 20{,}6392^{**}S - 7{,}9077^{**}S^2 + 0{,}3452^{**}NS$ ($R^2 = 0{,}88$)

$NTF = 39{,}6142 + 6{,}3488^{**}N - 0{,}1558^{**}N^2 + 21{,}0626^{**}S - 8{,}8181^{**}S^2 + 0{,}4272^{**}NS$ ($R^2 = 0{,}92$)

$NTF = 3{,}1160 + 7{,}8942^{**}N - 0{,}1871^{**}N^2 + 63{,}4337^{**}S - 24{,}2393^{**}S^2 + 1{,}3292^{**}NS$ ($R^2 = 0{,}89$)

Figura 5 - Número total de perfilhos - NTP (a e b) e de folhas - NTF (c e d) por vaso no primeiro (a e c) e segundo (b e d) crescimento do capim-piatã submetido a combinações de doses de nitrogênio (N) e enxofre (S) na solução nutritiva

O máximo número de perfilhos do capim-piatã foi obtido nas doses de 22,3 e 27,5 mmol L^{-1} de nitrogênio combinadas com 1,93 e 1,91 mmol L^{-1} de enxofre, durante o primeiro e segundo crescimentos das plantas, respectivamente. Na Figura 5 observa-se que o incremento na dose de nitrogênio de 2 mmol L^{-1} (mais baixa) para a de 23 mmol L^{-1} (dose alta) e mantendo-se fixa a dose mais baixa de enxofre (0,1 mmol L^{-1}), o número de perfilhos foi incrementado em 1,8 e 2,5 vezes e o número de folhas em 1,9 e 3,7 vezes no primeiro e segundo período de crescimento, respectivamente, deixando claro a importância do nitrogênio para o expressivo incremento em ambos os parâmetros.

O efeito positivo da adubação nitrogenada no perfilhamento de gramíneas forrageiras tem sido relatado por outros autores (McKENZIE; JACOBS; KEARNEY, 2002; PREMAZZI; MONTEIRO; CORRENTE, 2003; SILVEIRA; MONTEIRO, 2007) e está associado ao estímulo no crescimento e multiplicação de células vegetais, uma vez que esse nutriente é constituinte de ácidos nucleicos e proteínas celulares, além de apresentar a função secundária de promover a síntese e translocação de fitohormônios envolvidos na quebra da dominância de gemas laterais (DOUST, 2007; ONGARO; LEYSER, 2008). Nabinger (1996) afirmou que o suprimento de nitrogênio proporciona mais elevado perfilhamento, enquanto que o déficit de nitrogênio aumenta o número de gemas dormentes nas plantas.

Em experimento conduzido durante três anos, McKenzie, Jacobs e Kearney (2002) avaliaram doses de nitrogênio entre 0 e 225 kg ha^{-1} ano^{-1} e observaram aumento na densidade de perfilhos de azevém perene (*Lolium perenne*) de acordo com o incremento da adubação nitrogenada. Premazzi, Monteiro e Corrente (2003), trabalhando em casa de vegetação com *Cynodon* sp., observaram aumento na produção de perfilhos de aproximadamente 65% com a adição de nitrogênio de 80 mg dm^{-3} ao solo.

O efeito das doses de enxofre no perfilhamento do capim-piatã se mostrou mais evidente quando se forneceram elevadas doses de nitrogênio na solução nutritiva. O incremento de enxofre das doses de 0,1 até 1,9 mmol L^{-1}, mantendo-se fixa a dose de 9 mmol L^{-1} de nitrogênio propiciou aumento de apenas 1,1 vezes do número de folhas e perfilhos no primeiro crescimento e de 1,3 e 1,4 vezes no número de folhas e perfilhos, respectivamente, no segundo crescimento. Por outro lado, na dose de nitrogênio de 30 mmol L^{-1} o incremento de 0,1 a 1,9 mmol L^{-1} de enxofre na solução nutritiva proporcionou incremento de 1,3 e 2,2 vezes no número de folhas e de 1,5 e 1,9 vezes no número de perfilhos, durante o primeiro e segundo crescimentos, respectivamente. Dessa forma, fica evidente que o enxofre potencializou a formação de folhas e perfilhos, principalmente em plantas do capim-piatã adequadamente supridas com nitrogênio. Isto implica que a utilização

de fertilizantes nitrogenados deve ser acompanhada pelo fornecimento de enxofre para maximização da produção de folhas e perfilhos do capim-piatã.

De Bona e Monteiro (2010a), estudando o efeito de doses de nitrogênio e enxofre no crescimento do capim-marandu em um Neossolo Quartzarênico com expressivo teor de matéria orgânica, encontraram resposta da combinação de doses de nitrogênio x doses de enxofre no perfilhamento da gramínea somente no terceiro período de crescimento. Isso provavelmente está relacionado com a absorção de enxofre pelas plantas na forma de sulfato contido no solo, que pode ter sido suficiente para atender a demanda do capim nos dois períodos iniciais de crescimento. O enxofre fornecido também pode ter interagido no solo, uma vez que o teor de sulfato disponível às plantas depende, entre outros fatores, da quantidade de óxidos de ferro e alumínio, do pH e do teor de matéria orgânica do solo. Também, tal fato ter sido detectado no terceiro crescimento pode estar relacionado com a diferença de exigência por enxofre entre os cultivares para proporcionar maior perfilhamento das plantas, que pode ter sido maior no capim-piatã em relação ao capim-marandu.

O número máximo de perfilhos do segundo crescimento encontrado neste experimento foi duas vezes maior que o valor encontrado no primeiro crescimento. Isto provavelmente ocorreu porque durante a fase inicial de desenvolvimento a planta dirige grande parte do seu ciclo metabólico para suprir as necessidades durante o estabelecimento, utilizando apreciável parte da energia produzida para formação do sistema radicular e da parte aérea, enquanto no segundo período de crescimento a planta já dispõe do sistema radicular formado e apto para absorção de maior quantidade de nutrientes, além da indução das gemais basais para produzir mais perfilhos após o corte. Segundo Langer (1974), a ação do corte promove o desenvolvimento das gemas basais e a quebra de dormência apical, originando maior número de perfilhos nos períodos posteriores.

O estabelecimento e a perenidade das gramíneas forrageiras são dependentes, dentre outros fatores, da capacidade da gramínea em originar novos perfilhos, sendo que maior perfilhamento assegura maior proteção do solo contra ação de fatores ambientais, controla a presença de plantas daninhas e determina a produção da forragem (PEDREIRA; MELLO; OTANI, 2001). Dessa forma, a adubação nitrogenada combinada com a sulfatada contribui para a redução da degradação do solo, pois diminui a exposição ao impacto da chuva e exposição ao sol.

A emissão de folhas do capim-piatã atingiu valores máximos de 130 a 182 folhas por vaso (Figura 5c e 5d), no primeiro e segundo crescimentos, respectivamente. Esses valores foram obtidos nas doses de 22,8 e 28,5 mmol L^{-1} de nitrogênio combinadas com 1,8 e 2,1

mmol L^{-1} de enxofre, durante o primeiro e segundo crescimentos das plantas, respectivamente. Resultados semelhantes com relação à necessidade de enxofre foram encontrados por Batista e Monteiro (2006a) ao trabalharem com doses de nitrogênio e enxofre para o capim-marandu, onde as doses de enxofre que maximizaram a emissão de folhas foram de 2,1 e 1,8 mmol L^{-1} de enxofre no primeiro e segundo crescimentos, respectivamente. Artur (2010) encontrou como exigência máxima para emissão de folhas do capim-marandu a dose de 29 e 36 mg dm^{-3} de enxofre no segundo e terceiro crescimento das plantas, sendo que o efeito desse nutriente não foi significativo durante o primeiro período de crescimento. A diferença na dose para maximizar a produção de folhas pode estar relacionada ao substrato utilizado naquele experimento (solo), que interage com a fração de enxofre disponível às plantas em todas as combinações de doses de nitrogênio e enxofre testadas, fornecendo enxofre na forma de sulfato às plantas que não foram supridas com enxofre. No referido estudo os teores de enxofre-sulfato no solo se encontravam entre 7 e 14 mg kg^{-1} nas combinações de doses de nitrogênio e enxofre onde não se forneceu enxofre e atingiram teores entre 65 e 76 mg kg^{-1} nas combinações de nitrogênio com as maiores doses de enxofre.

No segundo período de crescimento do capim-piatã observou-se maior número de folhas (40 % superior) do que na ocasião do primeiro. Este fato foi paralelo ao mais elevado número de perfilhos emitidos na rebrotação, visto que o número de folhas por perfilho é um valor relativamente constante para cada espécie (YANG; MATTHEW; ROWLAND, 1998; CARNEVALLI; Da SILVA, 1999). Esses resultados também foram obtidos por Batista e Monteiro (2006a) e Artur (2010), trabalhando com capim-marandu.

De Bona e Monteiro (2010b), estudando o efeito do nitrogênio e do enxofre no desenvolvimento e produção de folhas e perfilhos do capim-marandu cultivado em solo, indicaram que a adequada aplicação desses nutrientes, em condições ambientais favoráveis, melhorou o desenvolvimento e a produção de folhas e perfilhos do capim. Embora o enxofre não tenha influenciado a resposta no primeiro crescimento, seu efeito na emissão de folhas e perfilhos puderam ser constatados, respectivamente, a partir do segundo e terceiro crescimentos da gramínea.

O efeito benéfico do nitrogênio na emissão de folhas e perfilhos pelo capim-piatã é bem definido, visto que o nutriente controla os processos de crescimento e desenvolvimento da planta, traduzido, sobretudo, pela maior rapidez de formação das gemas axilares e de iniciação dos perfilhos correspondentes (NABINGER; MEDEIROS, 1995). O suprimento de nitrogênio usualmente é acompanhado por maior demanda de enxofre pela gramínea forrageira, principalmente devido a necessidade de produção de maiores quantidades de

aminoácidos sulfurados em tais condições. Isso foi constatado durante o desenvolvimento do capim-piatã nos dois cortes, onde a maior emissão de folhas e perfilhos das plantas demandou altas doses de nitrogênio (até 28,5 mmol L^{-1}) e de enxofre (até 2,1 mmol L^{-1}) na solução nutritiva.

O nitrogênio e o enxofre promoveram aumento no número total de folhas e perfilhos, porém o efeito do enxofre foi evidente apenas quando as doses de nitrogênio foram elevadas, concordando com os resultados de Alzueta et al. (2012), ao estudarem o aparecimento de folhas e perfilhos em genótipos de cevada (*Hordeum vulgare*) e trigo (*Triticum aestivum*). Provavelmente o enxofre tenha promovido maior absorção de nitrogênio (SALVAGIOTTI et al., 2009), aumentando a sua disponibilidade às plantas e promovendo maior taxa de aparecimento de perfilhos. Dessa forma, a importância do fornecimento de enxofre é ressaltada principalmente quando altas doses de nitrogênio são utilizadas.

Constatou-se que, para a maximização no número de folhas e perfilhos do capim-piatã cultivado em solução nutritiva, há a necessidade de elevar as concentrações de nitrogênio e enxofre em aproximadamente 15 e 1 mmol L^{-1}, respectivamente, na solução original de Hoagland e Arnon (1950). Dessa forma, a combinação de elevadas doses de nitrogênio e de enxofre na solução nutritiva favorecem o maior perfilhamento e aparecimento de folhas do capim-piatã. Esses resultados assemelham-se aos encontrados por Mattos e Monteiro (2003) para capim-braquiária e por Artur (2010) para capim-marandu.

4.1.2 Taxa de aparecimento de folhas e filocrono

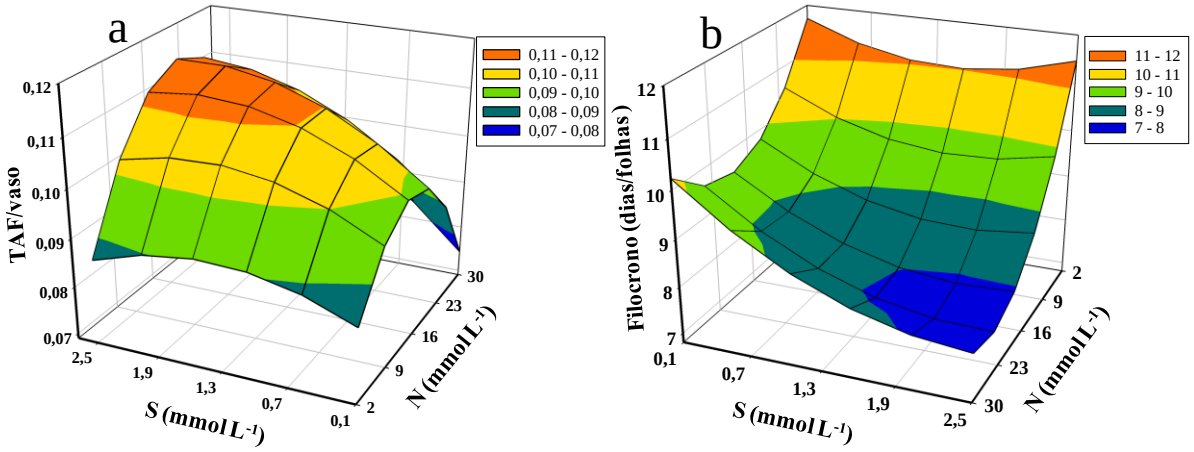
A taxa de aparecimento de folhas indica o número médio de folhas surgidas por dia, por perfilho (ANSLOW, 1966), enquanto o filocrono indica intervalo de tempo necessário para o surgimento de duas folhas consecutivas (WILHELM; McMASTER, 1995), sendo sua unidade expressa em dias por folha. A taxa de aparecimento de folhas e o filocrono não mostraram resposta significativa para as doses dos nutrientes ou a interação durante o primeiro crescimento das plantas. Contudo, houve significância para a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre no segundo período de crescimento do capim (Figura 6).

A maior taxa de aparecimento de folhas no segundo crescimento foi de 0,129 folhas por perfilho por dia, que ocorreu na dose de 27 mmol L^{-1} de nitrogênio (Figura 6a) combinada com dose de enxofre que extrapola a dose máxima estudada neste experimento. A discussão do efeito nutricional, particularmente do nitrogênio, na taxa de aparecimento de folhas não tem encontrado resultados uniformes. Alguns autores relataram o efeito significativo do nitrogênio em tal variável (GARCEZ NETO et al., 2002; MARTUSCELLO et al., 2006),

enquanto outros estudos tem sugerido respostas mais conservadoras do nitrogênio na taxa de aparecimento de folhas (LANGER, 1974; PINTO; GOMIDE; MAESTRI, 1994).

Pinto, Gomide e Maestri (1994) não constataram efeito das doses de nitrogênio na taxa de aparecimento de folhas de *Panicum maximum* e *Setaria anceps*, que apresentaram, respectivamente, taxas de 0,233 e 0,425 folhas por perfilhos por dia. Contudo, a maior disponibilidade de nitrogênio na solução nutritiva (de zero para 4,3 mmol L^{-1} de nitrato de amônio) elevou a taxa de aparecimento de folhas de joio (*Lolium temulentum*) de 0,046 para 0,134 folhas por perfilho por dia, reduzindo assim o filocrono de 21,62 para 7,47 dias por folha (THOMAS, 1983). Também, Garcez Neto et al. (2002), trabalhando com quatro doses de nitrogênio (0, 50, 100 e 200 mg dm^{-3}) e três intensidades de corte (5, 10 e 20 cm) com capim-mombaça (*Panicum maximum* cv. Mombaça), observaram que esse nutriente foi o principal responsável pelo aumento na taxa de aparecimento foliar, que atingiu até 104% na dose mais alta em relação à menor dose de nitrogênio.

No presente estudo não somente se constatou o efeito das doses de nitrogênio na taxa de aparecimento de folhas, e consequentemente no filocrono, como também foi verificado que as doses de enxofre potencializaram o efeito do nitrogênio, principalmente quando esse nutriente foi fornecido em alta disponibilidade às plantas.



$$TAF = 0{,}0782 + 0{,}0028^{**}N - 0{,}0001^{**}N^2 + 0{,}0102^{*}S - 0{,}0039^{*}S^2 + 0{,}0004^{**}NS \quad (R^2 = 0{,}81)$$

$$F = 12{,}3503 - 0{,}2770^{**}N + 0{,}0071^{**}N^2 - 1{,}0563^{*}S + 0{,}3915^{**}S^2 - 0{,}0322^{**}NS \quad (R^2 = 0{,}83)$$

Figura 6 - Taxa de aparecimento de folhas (TAF) por vaso (a) e filocrono (F) (b), no segundo período de crescimento das plantas de capim-piatã submetido a combinações de doses de nitrogênio (N) e enxofre (S) na solução nutritiva

Em condição de alta disponibilidade de nitrogênio a planta tem incremento no alongamento dos entrenós, fazendo com que a folha nova saia da bainha mais precocemente, podendo resultar em aumento na taxa de aparecimento foliar (OLIVEIRA et al., 2007).

Entretanto, Cruz e Boval (1999) relataram que a taxa de aparecimento de folhas é apenas levemente influenciada pela nutrição nitrogenada em gramíneas tropicais. Isso porque em *Setaria anceps*, o número de folhas produzidas depois de seis semanas de rebrotação variou somente de 12 para 13, como consequência da adubação nitrogenada. Divergências entre os estudos relativos ao efeito do nitrogênio no desenvolvimento das plantas podem estar relacionadas com as diferenças no tempo e na intensidade ou duração do estresse a que as plantas são submetidas, sendo que quanto maior a intensidade e a duração da falta de nitrogênio, maior será o impacto da adubação nitrogenada no desenvolvimento da cultura (FISCHER; HOWE; IBRAHIM, 1993).

O valor mínimo obtido para o filocrono no presente experimento foi de 7,6 dias por folha na combinação das doses de nitrogênio de 24,9 mmol L^{-1} com a dose de enxofre de 2,4 mmol L^{-1} (Figura 6b). À medida que as quantidades de nitrogênio e enxofre fornecidos foram menores, maior foi o filocrono nas plantas de capim-piatã, ou seja, maior foi o número de dias necessários para emissão de uma nova folha. Assim, na dose de nitrogênio de 2 mmol L^{-1} de nitrogênio combinada com a de enxofre de 0,1 mmol L^{-1} o valor de filocrono atingiu 11,7 dias por folha, ou seja, 1,5 vezes mais do que quando se forneceu doses altas de ambos os nutrientes.

Como encontrado no presente estudo para o segundo crescimento do capim-piatã, relatos indicam que o efeito do nitrogênio nos processos de produção de folhas pode também estar condicionado à disponibilidade de outros nutrientes (como de enxofre). Salvagiotti e Miralles (2007) relataram que a limitação de enxofre pode afetar o tamanho da folha e modificar a taxa de aparecimento de folhas em trigo. De Bona e Monteiro (2010b) encontraram modificações no filocrono do capim-marandu, cujos valores diminuíram à medida que os níveis de fertilização com nitrogênio e enxofre aumentaram. Esses autores relataram que essa redução no filocrono ocorreu até as doses de 300 e 25 mg dm^{-3} de nitrogênio e enxofre, respectivamente, quando em seguida, os valores de filocrono tenderam ao aumento. No mesmo estudo, resposta inversa à relatada ao filocrono foi obtida para a taxa de aparecimento de folhas.

Apesar de alguns estudos com gramíneas não terem encontrado respostas do fornecimento de nitrogênio e de enxofre no filocrono (SALVAGIOTTI; MIRALLES, 2007; ALZUETA et al., 2012), outros relataram alterações significativas em função de doses de nitrogênio (FISCHER; HOWE; IBRAHIM, 1993; GARCEZ NETO et al., 2002) e enxofre (BATISTA; MONTEIRO, 2006a) ou de ambos os nutrientes (DE BONA; MONTEIRO, 2010b), como encontrado neste experimento para o segundo período de crescimento. Essa

variação nos padrões de respostas do efeito do nitrogênio ou do enxofre no filocrono das plantas pode estar relacionada a diferenças na intensidade e momento do estresse nutricional, onde quanto maior a intensidade e a duração da deficiência desses nutrientes, maior será a influência deles no desenvolvimento da cultura (FISCHER; HOWE; IBRAHIM, 1993).

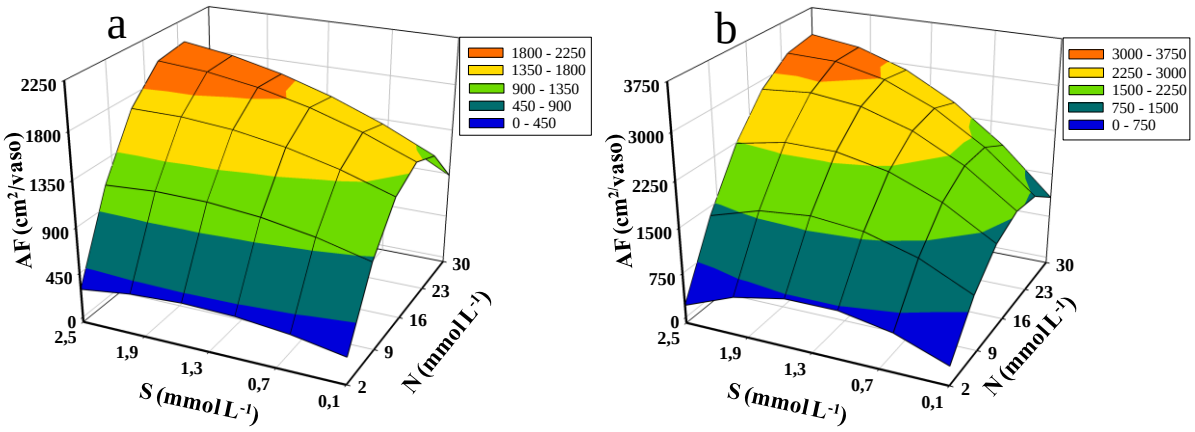
No presente estudo, as maiores taxas de aparecimento de folhas, assim como os menores valores de filocrono, foram obtidas quando se utilizaram doses altas de nitrogênio combinadas com doses altas de enxofre na solução nutritiva. Como o número de folhas vivas por perfilho é definido geneticamente (YANG; MATTHEW; ROWLAND, 1998; CARNEVALLI; Da SILVA, 1999) é possível inferir que as plantas que receberam altas doses de nitrogênio e de enxofre, conseguirão atingir seu máximo número de folhas por perfilhos mais precocemente em relação às que receberam baixas doses de nitrogênio e/ou de enxofre. Isso possibilitaria colheitas mais frequentes dos capins, a fim de evitar senescencia foliar. A redução do filocrono com a adubação nitrogenada é decorrente, principalmente, do efeito do nitrogênio no crescimento das plantas, que as confere maior capacidade de rebrotação (MARTUSCELLO et al., 2006). Contudo, a redução do filocrono no presente estudo, foi influenciada também pelo incremento nas doses de enxofre no segundo período de crescimento das plantas do capim-piatã, que potencializou a taxa de aparecimento de folhas e reduziu o filocrono.

4.1.3 Área foliar

A interação doses de nitrogênio x doses de enxofre foi significativa para a área foliar avaliada na ocasião de cada um dos dois cortes do capim-piatã (Figura 7). As doses de nitrogênio que promoveram a máxima área foliar foram de 23,5 mmol L^{-1} no primeiro corte e 29,3 mmol L^{-1} no segundo corte, sendo que as doses de enxofre para obter tais produções extrapolaram os limites testados neste estudo, evidenciando o grande potencial de resposta a esse nutriente. Outros estudos com gramíneas forrageiras tropicais também encontraram incremento na área foliar com fornecimento concomitante de nitrogênio e enxofre (BONFIM-DA-SILVA; MONTEIRO; SILVA, 2007; BATISTA; MONTEIRO, 2008).

As plantas do capim-piatã que receberam os mais baixos suprimentos de nitrogênio e enxofre (2 e 0,1 mmol L^{-1}, respectivamente) apresentaram área foliar correspondente a apenas 10,6 e 6,7% da máxima área foliar obtida, no primeiro e segundo cortes, respectivamente. Comparando-se a dose de 30 mmol L^{-1} de nitrogênio (dose mais alta) nas doses de enxofre de 0,1 e 2,5 mmol L^{-1}, nota-se que a maior dose de enxofre incrementou em 2,1 e 3,0 vezes a área foliar do capim-piatã na época do primeiro e segundo cortes, respectivamente. Esses

resultados indicam que o fornecimento de enxofre às plantas do capim-piatã bem supridas em nitrogênio é fundamental para promover a máxima área foliar.



$AF = -97{,}5191 + 154{,}5577^{**}N - 4{,}1266^{**}N^2 + 225{,}8244S - 86{,}0233S^2 + 12{,}8666^{**}NS$
($R^2 = 0{,}88$)

$AF = -175{,}1053 + 162{,}8258^{**}N - 4{,}2212^{**}N^2 + 852{,}9555^{**}S - 356{,}2539^{**}S^2 + 32{,}9782^{**}NS$
($R^2 = 0{,}91$)

Figura 7 - Área foliar (AF) no primeiro (a) e segundo (b) cortes do capim-piatã submetido a combinações de doses de nitrogênio (N) e enxofre (S) na solução nutritiva

O aumento da disponibilidade de nitrogênio às plantas proporciona maior elongação foliar, o que resulta em incremento na área foliar (CHAPMAN; LEMAIRE, 1993), e consequentemente na capacidade fotossintética das plantas, pois grande parte do nutriente está alocada em proteínas envolvidas no processo fotossintético (SEEMANN et al., 1987), sendo portanto, a área foliar, importante parâmetro para análise de crescimento e desenvolvimento das plantas. No presente estudo a alta disponibilidade de nitrogênio e enxofre promoveram incremento na área foliar das plantas do capim-piatã, sendo que o suprimento com enxofre potencializou o aumento da área foliar em plantas supridas adequadamente com nitrogênio.

Diversos trabalhos com gramíneas forrageiras relataram aumento na área foliar em função do incremento da adubação nitrogenada. Silveira e Monteiro (2007), trabalhando com combinações de nitrogênio e cálcio em solução nutritiva para o capim-tanzânia (*Panicum maximum* cv. Tanzânia), encontraram a máxima área foliar do capim nas doses de nitrogênio de 23,9 e 28,3 mmol L^{-1} para o primeiro e segundo cortes, respectivamente. Esses resultados foram semelhantes aos encontrados no presente estudo para o capim-piatã. Também, Lavres Junior e Monteiro (2003), avaliando o efeito de combinações de doses de nitrogênio e potássio na área foliar do capim-mombaça, verificaram que o intervalo das doses entre 24 a 33 mmol L^{-1} de nitrogênio proporcionaram a máxima área foliar nos dois cortes do capim. Por outro lado, a avaliação do capim-marandu quanto a doses de nitrogênio e idades de crescimento, mostrou menor exigência por nitrogênio, uma vez que doses entre 19,4 e 21,1

mmol L^{-1} maximizaram a área foliar dessa gramínea (SANTOS JUNIOR; MONTEIRO, 2003).

O enxofre, por sua vez, é importante na formação dos aglomerados de ferro-enxofre, que compõe o aparelho fotossintético das plantas, e do sistema de transportes de elétrons (LUNDE et al., 2008), sendo que a privação desse nutriente tem demonstrado causar supressão da eficiência fotossintética em arroz, com redução nos teores de clorofila e da enzima Ribulose 1,5-Bisfosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco) (RESURRECCION et al., 2001). O enxofre também participa da redução do nitrogênio, através da molécula de ferredoxina (TAIZ; ZEIGER, 2009), sendo essencial, para a obtenção da máxima eficiência fotossintética e redução do nitrogênio nas plantas, que será incorporado a diversos compostos, como a clorofila, responsável pela captação da energia solar. Segundo Marschner (1995), a deficiência de enxofre promove redução no tamanho e no número de células foliares, o que resulta em diminuição da área foliar.

Batista e Monteiro (2006a), determinando a área foliar do capim-marandu mediante combinação de doses de nitrogênio (1 a 33 mmol L^{-1}) e enxofre (0,1 a 2,5 mmol L^{-1}), em experimento conduzido em casa de vegetação utilizando solução nutritiva, encontraram significância para a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre nos dois cortes do capim. Os autores relataram que os pontos de máxima área foliar no primeiro corte ocorreram em doses mais elevadas que as estudadas, e que no segundo corte a máxima área foliar foi obtida na dose de nitrogênio de 25,8 mmol L^{-1} combinada com a dose de enxofre de 1,7 mmol L^{-1}. Os autores ainda destacaram que o baixo fornecimento de nitrogênio e de enxofre na solução nutritiva foi responsável por apenas 9,5% e 3% da máxima área foliar obtida no primeiro e segundo cortes, respectivamente.

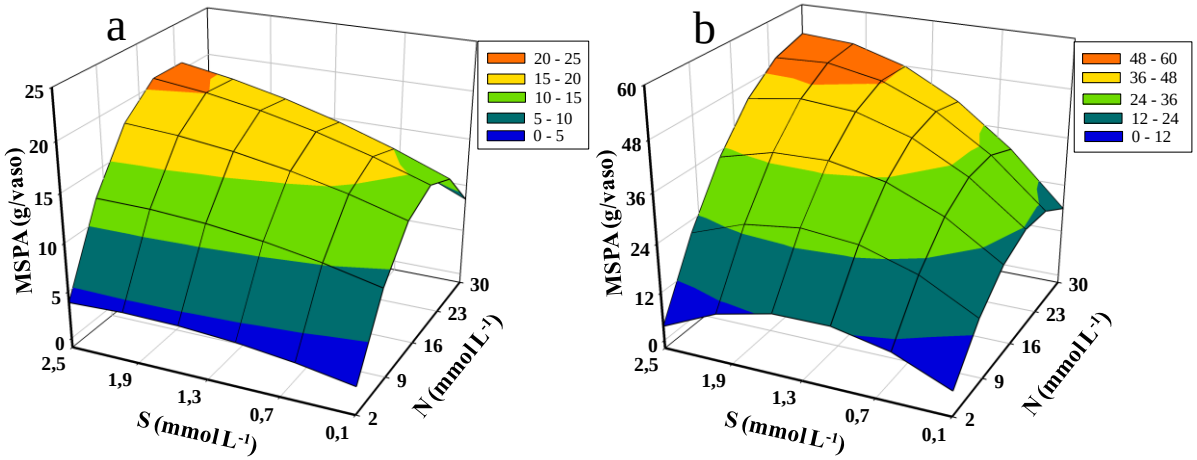
De Bona e Monteiro (2010a), avaliando o efeito de combinações de doses de nitrogênio e de enxofre na área foliar do capim-marandu, em um solo com alto teor de matéria orgânica, encontraram efeito positivo somente da fertilização nitrogenada para o primeiro corte, em situação onde o enxofre contido no solo teria sido suficiente para atender a demanda das plantas. No segundo e terceiro cortes das plantas a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre foi significativa para a área foliar da gramínea. A máxima área foliar do capim coletado no segundo corte foi obtida nas doses de 334 e 31 mg dm^{-3}, de nitrogênio e de enxofre, respectivamente, enquanto no terceiro corte foi obtida na dose de nitrogênio de 375 mg dm^{-1} combinada com dose de enxofre que extrapolou as utilizadas (maior que 40 mg dm^{-3}). Segundo os autores, após o primeiro corte, o crescimento da gramínea foi

intensificado e consequentemente, houve maior necessidade de enxofre, junto com a do nitrogênio para o incremento da área foliar das plantas.

O aumento da área foliar da planta forrageira com o suprimento simultâneo de nitrogênio e de enxofre resulta em maior capacidade fotossintética da planta, uma vez que há mais área foliar para realizar a interceptação luminosa (ABDIN et al., 2007). Pastagens compostas por plantas com mais área foliar tendem a manter maior área foliar residual após o pastejo, o que favorece a rebrotação da pastagem (BROUGHAM, 1956).

4.1.4 Produção de massa seca da parte aérea

A interação doses de nitrogênio x doses de enxofre foi significativa para a produção de massa seca da parte aérea, no primeiro e segundo cortes do capim-piatã (Figura 8). No primeiro corte, a máxima produção de massa seca seria obtida com dose de nitrogênio de 23 mmol L^{-1} combinada com dose de enxofre que extrapola a dose máxima estudada. No segundo corte, a dose de nitrogênio que proporcionaria a máxima produção de massa seca extrapola a máxima utilizada no experimento e seria combinada com a dose de enxofre de 2,4 mmol L^{-1}.



$MSPA = -1{,}4923 + 1{,}6675^{**}N - 0{,}0451^{**}N^2 + 2{,}2945S - 0{,}6594S^2 + 0{,}1106^{*}NS$ ($R^2 = 0{,}84$)

$MSPA = -1{,}8706 + 2{,}3453^{**}N - 0{,}0596^{**}N^2 + 15{,}7991^{**}S - 6{,}5772^{**}S^2 + 0{,}5261^{**}NS$ ($R^2 = 0{,}94$)

Figura 8 - Produção de massa seca da parte aérea (MSPA) no primeiro (a) e segundo (b) cortes do capim-piatã submetido a combinações de doses de nitrogênio (N) e enxofre (S) na solução nutritiva

O nitrogênio controla os processos de crescimento e desenvolvimento das plantas, pelo incremento da fixação de carbono, proporcionando aumento na produção de massa seca (NABINGER, 2001). Isso ocorre devido à forte interação do metabolismo do nitrogênio com o do carbono, uma vez que a fotossíntese fornece direta ou indiretamente a energia necessária

para a assimilação de nitrogênio pelas plantas. Por sua vez, a capacidade fotossintética é influenciada pelo suprimento de enxofre, sendo diminuída com a privação desse nutriente, principalmente devido à diminuição nos teores de clorofila e da Rubisco (GILBERT et al., 1997; RESURRECCION et al., 2001). O enxofre é importante para a formação do aglomerado ferro-enxofre no aparato fotossintético e do sistema de transporte de elétrons, sendo que a privação de enxofre causa supressão significativa na eficiência fotossintética das plantas (RESURRECION et al., 2001), o que resulta em menor fixação de carbono e em menor massa seca da planta.

O aumento da área foliar em condição de elevado suprimento de nitrogênio permitiu maior captação de energia luminosa, que se refletiu em aumento da produção de massa seca do capim. Por sua vez, o aumento nas doses de nitrogênio incrementou a demanda por enxofre pelas gramíneas, como encontrado também para *Paspalum notatum* (KALMBACHER et al., 2005) e para *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (DE BONA; MONTEIRO, 2010a). O suprimento de nitrogênio à planta acelera a síntese de proteínas, que por sua vez demanda maior quantidade de aminoácidos sulfurados (cisteína, metionina e cistina) (CRAWFORD et al., 2000), explicando o aumento na demanda da planta pelo enxofre.

Como se pode constatar na Figura 8, em baixas doses de nitrogênio (2 e 9 mmol L^{-1}) o incremento nas doses de enxofre promoveu pequenos aumentos na produção de massa seca das plantas. Entretanto, em doses mais elevadas de nitrogênio (23 e 30 mmol L^{-1}) a planta apresentou maior exigência pelo enxofre, para incrementar a produção de massa seca da parte aérea. Observa-se também que, das mais baixas para as mais altas combinações de nitrogênio e enxofre, a produção de massa seca da parte aérea teve incremento no primeiro e segundo cortes, respectivamente, de 9,4 e 12,5 vezes. Na dose mais alta de nitrogênio testada neste experimento (30 mmol L^{-1}), o incremento nas doses de enxofre resultou em grande variação na produção de massa seca, sendo que da menor para a maior dose de enxofre, nesta condição, houve incremento de 2,1 e 2,9 vezes na produção de massa seca da parte aérea no primeiro e segundo corte, respectivamente.

O adequado suprimento de enxofre melhora a utilização do nitrogênio na síntese de proteínas (Rubisco) e clorofila, aumentando assim a taxa fotossintética, que conduz à maior produção das culturas (ABDIN et al., 2007). Mathot et al. (2008), avaliando o efeito da combinação de três doses de nitrogênio (40, 80 e 105 kg ha^{-1}) e duas doses de enxofre (0 e 25 kg ha^{-1}) na produção de pastagens de *Lolium* sp. em solos da Bélgica, observaram que o suprimento de enxofre aumentou a produção de massa seca da planta, em média, em 800 kg ha^{-1} ano^{-1}. Phillips e Sabbe (1994), estudando o efeito da adubação nitrogenada e sulfatada

no capim coastal Bermuda (*Cynodon dactylon*) em solos arenosos pobres em enxofre, concluíram que para o aumento na produção de massa seca da forragem houve necessidade do suprimento de enxofre de 100 kg ha^{-1}.

O aumento na produção de massa seca das gramíneas adubadas com nitrogênio e enxofre relaciona-se também com o incremento do número de perfilhos (PREMAZZI; MONTEIRO; CORRENTE, 2003; DE BONA; MONTEIRO, 2010b) e área foliar (BATISTA; MONTEIRO, 2008). No presente estudo a produção de massa seca da parte aérea do capim-piatã correlacionou-se positivamente com o número total de perfilhos, o número total de folhas e a área foliar nos dois cortes da gramínea, como pode ser observado na Tabela 2. No primeiro corte a maior correlação da produção de massa seca da parte aérea foi com a área foliar das plantas e no segundo corte a maior correlação da produção de massa seca da parte aérea foi com a área foliar e com o número total de folhas (r = 0,99***).

Tabela 2 - Coeficiente de correlação de Pearson entre a massa seca da parte aérea das plantas (MSPA), o número total de perfilhos (NTP), o número total de folhas (NTF) e a área foliar (AF), no primeiro (1) e no segundo (2) cortes do capim-piatã, cultivado com combinações de doses de nitrogênio e de enxofre na solução nutritiva

	MSPA1	MSPA2	NTP1	NTP2	NTF1	NTF2	AF1
MSPA1	-	-	-	-	-	-	-
MSPA2	0,92***	-	-	-		-	-
NTP1	0,97***	0,95***	-	-	-	-	-
NTP2	0,96***	0,97***	0,99***	-	-	-	-
NTF1	0,95***	0,94***	0,99***	0,98***	-	-	-
NTF2	0,95***	0,99***	0,98***	0,99***	0,97***	-	-
AF1	0,99***	0,95***	0,99***	0,97***	0,97***	0,98***	-
AF2	0,92***	0,99***	0,94***	0,97***	0,92***	0,99***	0,95***

*** significativo a 0,1% de probabilidade

No presente estudo constatou-se que para a maximização de produção de folhas e perfilhos, área foliar e massa seca da parte aérea do capim-piatã foi necessário o fornecimento concomitante de nitrogênio e de enxofre, desde o primeiro período de crescimento das plantas. Batista e Monteiro (2006a), trabalhando com doses de nitrogênio e enxofre para o capim-marandu cultivado em solução nutritiva, não encontraram resposta das doses de enxofre no número de perfilhos por vaso durante o primeiro crescimento. Trabalhos com o

capim-marandu cultivado em solo indicaram baixa demanda por enxofre na fase de estabelecimento das plantas, onde esse nutriente foi exigido somente a partir do segundo período de crescimento, provavelmente porque o solo forneceu o enxofre necessário na fase inicial de crescimento das plantas (ARTUR, 2010; DE BONA; MONTEIRO, 2010a).

Neste estudo evidencia-se a importância do suprimento de nitrogênio e enxofre nos parâmetros produtivos das plantas de capim-piatã, sendo o nitrogênio o principal nutriente que controla os processos de crescimento das plantas. À medida que o fornecimento de nitrogênio foi sendo incrementado, maior foi também a demanda pelo enxofre, que combinados em elevadas doses proporcionaram o máximo crescimento e desenvolvimento das plantas de capim-piatã, cultivados em condições controladas.

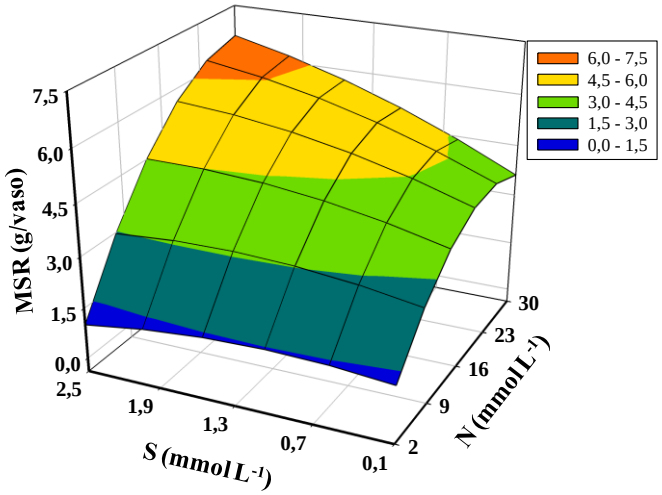
4.2 Modificações no sistema radicular das plantas

4.2.1 Produção de massa seca do sistema radicular

A interação doses de nitrogênio x doses de enxofre foi significativa para a produção de massa seca de raízes do capim-piatã (Figura 9). A máxima produção de raízes do capim não foi atingida com as doses de nitrogênio e enxofre utilizadas neste experimento. Analisando-se as combinações de doses de ambos os nutrientes observa-se que, quando o nitrogênio foi mantido na dose mais alta (30 mmol L^{-1}) e a utilização de enxofre foi elevada de 0,1 para 2,5 mmol L^{-1}, a produção de massa seca das raízes foi praticamente duplicada. Quando estudada a maior dose de enxofre (2,5 mmol L^{-1}), alterando-se a dose de nitrogênio de 2 para 30 mmol L^{-1}, a produção de massa seca do sistema radicular foi aumentada em 6,5 vezes. Dessa forma, fica evidente a importância do nitrogênio para a produção de massa seca do sistema radicular das plantas de capim-piatã, que foi, contudo potencializado pela utilização de enxofre, em razão da contribuição desse nutriente para melhor eficiência de utilização do nitrogênio pelo capim. Assim, doses baixas de nitrogênio ou de enxofre, produzem muito menos massa seca do sistema radicular do capim-piatã, em relação ao fornecimento adequado de ambos os nutrientes.

Batista e Monteiro (2006b), trabalhando com doses de nitrogênio (1; 9; 15; 24 e 33 mmol L^{-1}) combinadas com doses de enxofre (0,1; 0,4; 1,0; 2,0 e 2,5 mmol L^{-1}) em capim-marandu cultivado em solução nutritiva, observaram somente o efeito positivo do nitrogênio na produção de massa seca das raízes, enquanto não foi significativo o efeito do enxofre. Resultados com outras gramíneas forrageiras envolvendo adubação nitrogenada e sulfatada

também mostraram alteração na massa seca das raízes somente sob influência do nitrogênio e não de enxofre (BONFIM-DA-SILVA, 2005; SILVEIRA et al., 2011). Por outro lado Artur (2010), trabalhando com doses de nitrogênio e de enxofre em um Neossolo Quartzarênico com baixos teores de matéria orgânica e enxofre-sulfato, encontrou resposta na produção de massa seca das raízes do capim-marandu tanto para o fornecimento de nitrogênio quanto para o de enxofre. Nessa situação a dose de nitrogênio de 294,9 mg dm^{-3} combinada com a de enxofre de 29,3 mg dm^{-3} resultou na máxima produção de massa seca das raízes.



$$MSR = 0{,}6762 + 0{,}2929^{**}N - 0{,}0067^{**}N^2 + 0{,}3523S - 0{,}2153S^2 + 0{,}0483^{**}NS$$
$$(R^2 = 0{,}87)$$

Figura 9 - Produção de massa seca das raízes (MSR) de capim-piatã submetido a combinações de doses de nitrogênio (N) e enxofre (S) na solução nutritiva

O suprimento de nutrientes, principalmente o de nitrogênio, altera a morfologia, o crescimento e a distribuição das raízes em seu substrato (MARSCHNER, 1995). Uma planta bem suprida em nitrogênio apresenta sistema radicular mais desenvolvido do que uma planta deficiente em nitrogênio, pois os mecanismos envolvidos no crescimento do sistema radicular estão relacionados com o acúmulo de carboidratos na ausência do nutriente (BROWER, 1962). Quando há deficiência de nitrogênio há redução no crescimento da planta e na demanda por fotoassimilados, para a produção de aminoácidos e proteínas na parte aérea, aumentando consequentemente a disponibilidade de carboidratos (amido, por exemplo) que é direcionado para as raízes (RUFTY JUNIOR et al., 1988). O acúmulo excessivo de amido no cloroplasto pode afetar seriamente a fotossíntese por dificultar a chegada de CO_2 aos sítios de carboxilação da Rubisco (GUIDI et al., 1998). Para Kerr et al. (1986), o processo que regula a alocação de carbono entre amido e sacarose é mais dependente da nutrição nitrogenada do que a própria taxa fotossintética. Dessa forma, a deficiência de nitrogênio pode afetar a partição

de assimilados entre as partes da planta, ocasionando aumento na relação entre a massa seca das raízes e a massa seca da parte aérea (CRUZ, 2001).

Santos (1997) encontrou incrementos lineares na produção de massa seca das raízes da *Brachiaria decumbens* em função da elevação das aplicações de enxofre, onde o incremento da dose de enxofre de 0 para 80 mg dm^{-3} aumentou em 39% a produção de massa seca das raízes. Monteiro e Ono (1995) também obtiveram respostas na produção de massa seca de raízes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em função do aumento na dose de enxofre em solução nutritiva. Hill et al. (2006), estudando a morfologia do sistema radicular de dez espécies de pastagens na Austrália, relataram que a produção de massa seca das raízes de *Hordeum leporinum*, *Arctotheca calendula*, *Microlaena stipoides* e *Phalaris aquática* diminuiu de 27 a 42% do alto (137,8 mg dm^{-3}) para o não fornecimento de nitrogênio às plantas.

A interação doses de nitrogênio x doses de enxofre não foi significativa para a relação parte aérea: raízes (relação entre a produção de massa seca da parte aérea nos dois cortes com a produção de massa seca das raízes obtidas após o segundo corte das plantas). Contudo, a relação parte aérea:raízes foi influenciada isoladamente pelas doses de nitrogênio e de enxofre da solução nutritiva e houve correlação significativa e positiva entre a produção relativa de massa seca da parte aérea e das raízes do capim-piatã (Figura 10).

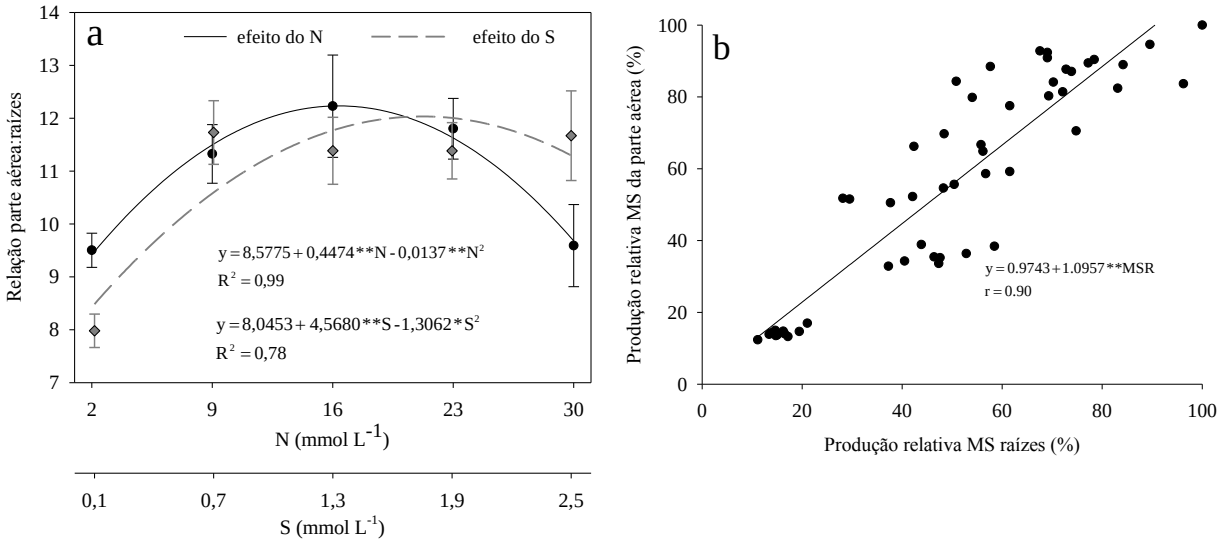


Figura 10 - Efeito do fornecimento de nitrogênio (N) e de enxofre (S) na relação parte aérea:raízes (a) e correlação entre a produção relativa de massa seca (%) da parte aérea e raízes (b) do capim-piatã cultivado em solução nutritiva

O baixo fornecimento de nitrogênio e de enxofre proporcionou as menores produções de massa seca das raízes, mas em menor grau do que a diminuição na produção de massa seca da parte aérea, o que resultou em baixa relação parte aérea:raízes. Essa relação foi de 9,4:1 e

8,5:1 na menor dose de nitrogênio (2 mmol L^{-1}) e de enxofre (0,1 mmol L^{-1}), respectivamente. Isso demonstra que, mais produtos fotoassimilados foram alocados para o sistema radicular das plantas quando houve carência no suprimento de nitrogênio e de enxofre na solução nutritiva (Figura 10a). A alocação de fotoassilados para as raízes, indicada pela diminuição da relação parte aérea:raízes foi relatada em condições de baixa disponibilidade de nutrientes envolvidos na síntese de novos tecidos, como nitrogênio e enxofre (EGHBALL; MARANVILLE, 1993; ERICSSON, 1995; SKINNER; COMAS, 2010).

À medida que o suprimento de nitrogênio e de enxofre foi incrementado a relação parte aérea:raízes foi aumentada até o máximo de aproximadamente 12:1, obtido nas doses de nitrogênio de 16,3 mmol L^{-1} e de enxofre de 1,7 mmol L^{-1}. Assim como no presente estudo, a alocação de fotoassimilados foi direcionada para a parte aérea das plantas com o incremento no suprimento de nitrogênio na cultura do milho (EGHBALL; MARANVILLE, 1993) e de enxofre nas culturas da alfafa (*Medicago sativa*) (WANG et al., 2003) e trevo branco (VARIN et al., 2010).

O suprimento de nitrogênio e de enxofre incrementa a produção de massa seca da parte aérea e das raízes do capim-piatã (Figuras 8 e 9), sendo que houve correlação positiva entre as produções relativas de massa seca das raízes e da parte aérea das plantas (Figura 10b). Observou-se que na elevada dose de nitrogênio (30 mmol L^{-1}) a relação parte aérea: raízes decresceu, sendo igual ao valor da relação parte aérea: raízes encontrada na mais baixa dose de nitrogênio (2 mmol L^{-1}) (Figura 10a). Para a planta continuar incrementando o crescimento da parte aérea, na dose de 30 mmol L^{-1} de nitrogênio, foi necessário alocar mais produtos fotoassimilados para a formação de novas raízes devido ao incremento na demanda de nutrientes.

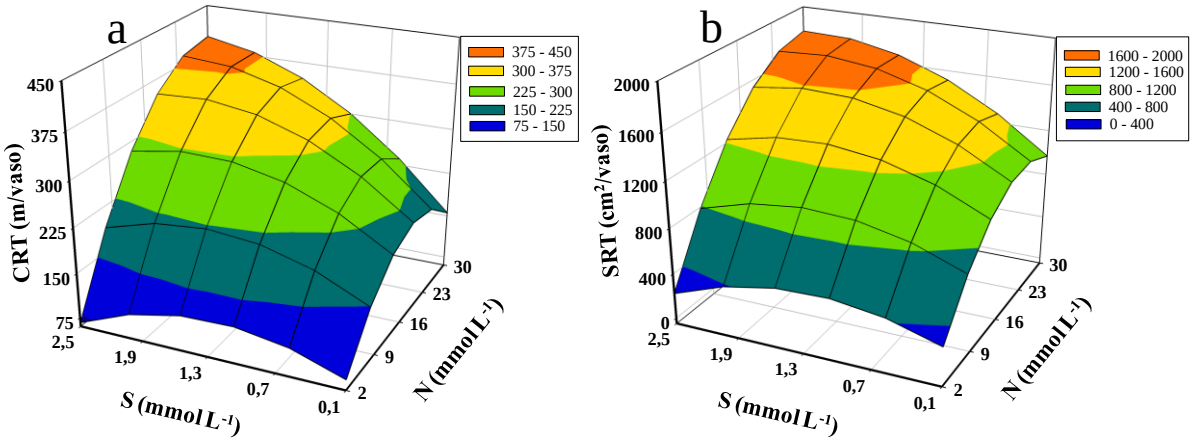
O sistema radicular bem desenvolvido garante boa formação e sustentação da parte aérea, além de ser responsável, juntamente com as bases do caule, pela remobilização de carboidratos não estruturais das raízes para a parte aérea, os quais são responsáveis pela rebrotação das gramíneas forrageiras após a desfolhação (VOLENEC; OURRY; JOERN, 1996).

4.2.2 Comprimento e superfície radiculares totais

Os resultados de comprimento e superfície totais do sistema radicular das plantas de capim-piatã revelaram significância para a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre utilizadas na solução nutritiva (Figura 11). O comprimento total máximo do sistema radicular

encontrado pelo modelo estatístico somente seria obtido em doses de nitrogênio e de enxofre que extrapolam as estudadas neste experimento.

O aumento nas doses de nitrogênio na solução nutritiva de 2 para 30 mmol L^{-1}, combinadas com a dose mais baixa de enxofre (0,1 mmol L^{-1}) promoveu incremento de duas vezes no comprimento radicular total das plantas de capim-piatã. Por outro lado, a combinação de doses dos dois nutrientes que proporcionaria o máximo comprimento radicular incrementaria em 5,2 vezes o comprimento radicular total das plantas, comparado com a combinação das menores doses de nitrogênio e enxofre utilizadas neste experimento (Figura 11a), demonstrando assim a importância do enxofre para o comprimento total das raízes. O desenvolvimento das raízes é estimulado pelo fornecimento de nutrientes, que promove aumento na densidade do comprimento radicular, ou seja, as plantas passam a ter maior comprimento do sistema radicular por volume de solo a ser explorado (BILBROUGH; CALDWELL, 1995).



$CRT = 37,1109 + 16,8982^{**}N - 0,4526^{**}N^2 + 77,8562^{*}S - 34,5767^{*}S^2 + 3,7615^{**}NS$ ($R^2 = 0,80$)

$SRT = 89,4207 + 86,8679^{**}N - 2,0002^{**}N^2 + 364,6339^{*}S - 161,1284^{*}S^2 + 13,0825^{**}NS$ ($R^2 = 0,79$)

Figura 11 - Comprimento radicular total – CRT (a) e superfície radicular total – SRT (b) das plantas de capim-piatã submetidas a combinações de doses de nitrogênio (N) e enxofre (S) na solução nutritiva

Robinson e Rorison (1985), avaliando o desenvolvimento das raízes de duas espécies forrageiras (*Holcus lanatus* e *Deschampsia flexuosa*) cultivadas em condição de baixo e alto fornecimento de nitrogênio, constataram diferenças no comprimento total e na densidade de raízes em função das adubações com nitrogênio, sendo que na *H. lanatus* a densidade de raízes sofreu incrementos lineares com as doses de nitrogênio. Boot e Mensink (1990), estudando cinco espécies de gramíneas forrageiras oriundas de solos férteis e de baixa fertilidade, relataram que as espécies provenientes de solos menos férteis responderam ao baixo suprimento de nitrogênio com aumento significativo no comprimento radicular total.

Por outro lado, Wang et al. (2003) encontraram incremento no comprimento radicular de alfafa cultivada sob doses de enxofre (20 e 40 mg kg^{-1} de solo), quando comparado com o controle (sem suprimento de enxofre) e relataram que 75 dias após a emergência das plantas esse incremento no comprimento radicular foi de 2,5 vezes.

A máxima superfície radicular total foi alcançada na combinação das doses de nitrogênio e enxofre de 29,3 e 2,3 mmol L^{-1}, respectivamente (Figura 11b). O fornecimento de baixas doses de nitrogênio resulta em muito pequena superfície radicular total, mesmo em condições de fornecimento de elevadas doses de enxofre. Por outro lado, quando se forneceu a dose de 2,5 mmol L^{-1} de enxofre, a elevação das doses de nitrogênio de 9 para 30 mmol L^{-1} proporcionou incremento de duas vezes na superfície radicular total do capim-piatã.

Os resultados da adubação nitrogenada estão de acordo com os relatados por outros autores em avaliação da distribuição do sistema radicular com o processamento de imagens digitais, os quais indicam que o incremento na adubação nitrogenada proporcionou aumento no comprimento e na superfície radicular das gramíneas forrageiras (BONFIM-DA-SILVA, 2005; BATISTA; MONTEIRO, 2006b; SILVEIRA et al., 2011). Contudo nenhum dos referidos estudos mostrou resposta ao enxofre para tais variáveis. Por outro lado, Wang et al. (2003), estudando o efeito das doses de enxofre (0, 20 e 40 mg kg^{-1} de solo) no crescimento radicular de plantas de alfafa, relataram incremento de até 1,8 vezes na superfície radicular das plantas adubadas com enxofre comparada com o controle sem enxofre.

No presente estudo, o fornecimento das mais elevadas doses de nitrogênio e de enxofre proporcionaram o maior comprimento e superfície radiculares das plantas de capim-piatã, que apresentaram correlação significativa e positiva entre si (r = 0,96**). Provavelmente essa espécie apresenta maior exigência por enxofre para maximização dessas variáveis do que outras gramíneas tropicais do gênero *Brachiaria*, que não foram influenciadas pelo suprimento de enxofre, em trabalhos desenvolvidos com materiais inertes como substrato (BATISTA; MONTEIRO, 2006b). Por outro lado trabalhos desenvolvidos em solo (BOOT; MENSINK, 1990; ARTUR, 2010; SILVEIRA et al., 2011) podem ter sido influenciados pela disponibilidade de enxofre na forma de sulfato contido nos solos, que pode ter sido suficiente para suprir as exigências do sistema radicular das plantas.

4.2.3 Comprimento e superfície radiculares específicos

A interação doses de nitrogênio x doses de enxofre não foi significativa para a superfície e o comprimento radicular específicos do capim-piatã. Os valores de comprimento radicular específico das plantas ajustaram-se ao modelo linear para as doses de nitrogênio e

quadrático para as doses de enxofre (Figura 12a). O mais baixo fornecimento de nitrogênio na solução nutritiva (2 mmol L^{-1}) foi responsável pelo maior comprimento radicular específico do capim-piatã, o que indica que, nessa condição as plantas produzem raízes mais finas para tentar interceptar os nutrientes que estão em baixa disponibilidade (FITTER, 1996). À medida que as doses de nitrogênio na solução nutritiva foram incrementadas de 2 para 30 mmol L^{-1}, o comprimento radicular específico sofreu redução de 73%, expressando maior diâmetro ou espessura das raízes.

Vários estudos têm relatado maior comprimento radicular específico de gramíneas forrageiras em condição de baixo suprimento de nutrientes (LAVRES JUNIOR; MONTEIRO, 2003; BATISTA; MONTEIRO, 2006b; HILL et al., 2006; DUPAS, 2012). Alto valor de comprimento radicular específico implica em raízes mais finas e longas, que apresentam maior ciclagem das raízes e perda de massa seca do que raízes mais grossas. Isso pode ser desvantajoso em casos em que longa vida do sistema radicular é desejável (HILL et al., 2006).

Boot e Mensink (1990) avaliaram o crescimento e desenvolvimento radicular de cinco espécies forrageiras (*Deschampsia flexuosa*, *Festuca ovina*, *Festuca rubra*, *Holcus lanatus* e *Molinia caerulea*) proveniente de solos férteis e solos com baixa fertilidade e submetidas à adubação nitrogenada, e não encontraram diferenças significativas no comprimento radicular específico, área radicular específica e comprimento radicular devido ao fornecimento de nitrogênio para qualquer das espécies.

O comprimento radicular específico também foi influenciado pelas doses de enxofre e mostrou máxima resposta na dose de enxofre de 1,35 mmol L^{-1} (Figura 12a). As doses extremas de enxofre (baixas ou altas) proporcionaram menores comprimentos específicos das raízes do capim, indicando a produção de raízes mais grossas. Isso sugere que o aumento no comprimento radicular total do capim-piatã não acompanhou proporcionalmente o aumento de massa seca da parte aérea, que foi crescente com o incremento das doses de enxofre em uma mesma dose de nitrogênio.

Batista e Monteiro (2006b), avaliando o efeito do fornecimento de combinações de doses de nitrogênio e de enxofre no sistema radicular do capim-marandu cultivado em substrato inerte e condições controladas, encontraram influência significativa apenas do nitrogênio no comprimento radicular específico das plantas. Esses resultados reforçam a informação de que as plantas do capim-piatã são mais exigentes em enxofre para a maximização do crescimento radicular das plantas do que a *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

Plantas com elevado comprimento radicular específico podem apresentar vantagem em relação às plantas com baixo comprimento radicular específico, porque têm menor custo de carbono para produzir o comprimento das raízes (EISSENSTAT, 1992). Isto pode, por sua vez, ter importantes implicações na capacidade competitiva de uma planta na pastagem.

Para a superfície radicular específica do capim-piatã não foi significativa a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre. Também não ocorreu efeito significativo das doses de nitrogênio nessa variável. Contudo, a superfície radicular específica foi influenciada pelas doses de enxofre, com os resultados ajustando-se a modelos quadrático de regressão (Figura 12b). A maior superfície radicular específica foi proporcionada pela dose de enxofre de 1,31 mmol L^{-1} e doses muito baixas ou muito altas de enxofre resultaram em menor superfície específica das raízes (semelhante ao que ocorreu com o comprimento radicular específico do capim-piatã). Batista e Monteiro (2006a), estudando o sistema radicular do capim-marandu, não encontraram resposta na superfície radicular específica pelo suprimento de doses de nitrogênio e de enxofre na solução nutritiva.

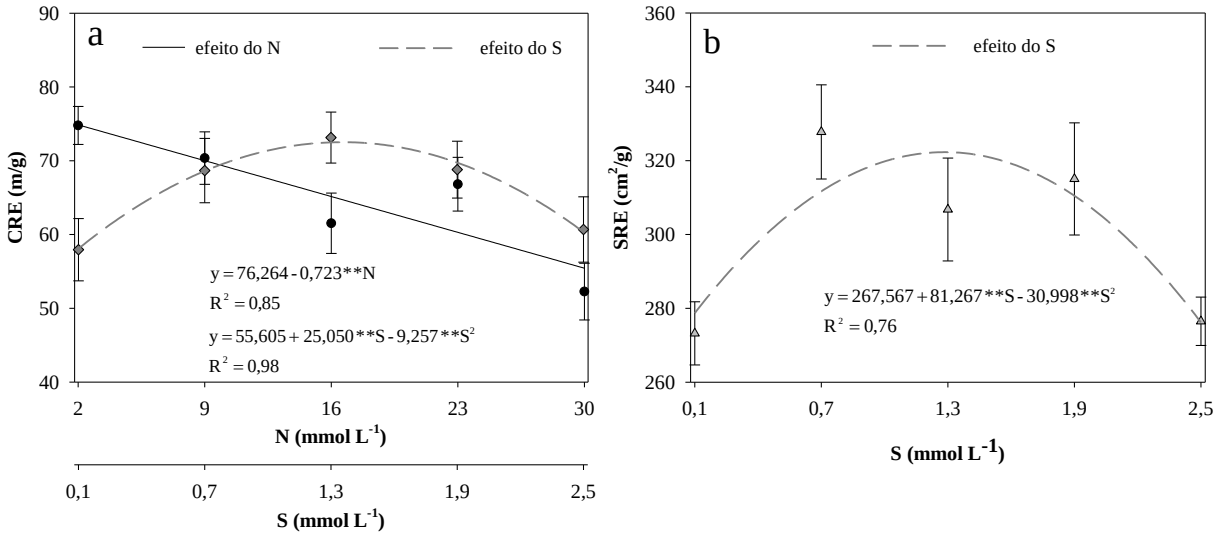


Figura 12 - Comprimento radicular específico (CRE) relacionado às doses de nitrogênio (N) e de enxofre (S) (a) e superfície radicular específica (SRE) em relação às doses de enxofre (S) (b), para o capim-piatã cultivado em solução nutritiva

O sistema radicular do capim-piatã avaliado na ocasião do segundo corte das plantas, mostrou visualmente as diferenças no desenvolvimento das raízes em função do fornecimento de nitrogênio e enxofre na solução nutritiva. As doses mais elevadas de ambos os nutrientes foram responsáveis pelo maior crescimento do sistema radicular, como constatado ao final do período experimental (Figuras 13 e 14). O nitrogênio aparece como principal responsável pelo desenvolvimento das raízes (Figura 13). À medida que o fornecimento de nitrogênio foi

aumentado, a falta de enxofre no substrato limitou o desenvolvimento das raízes do capim-piatã. Assim, doses maiores de enxofre são requeridas para que haja melhor desenvolvimento do sistema radicular das plantas do capim-piatã recebendo adequado suprimento de nitrogênio (Figura 14).

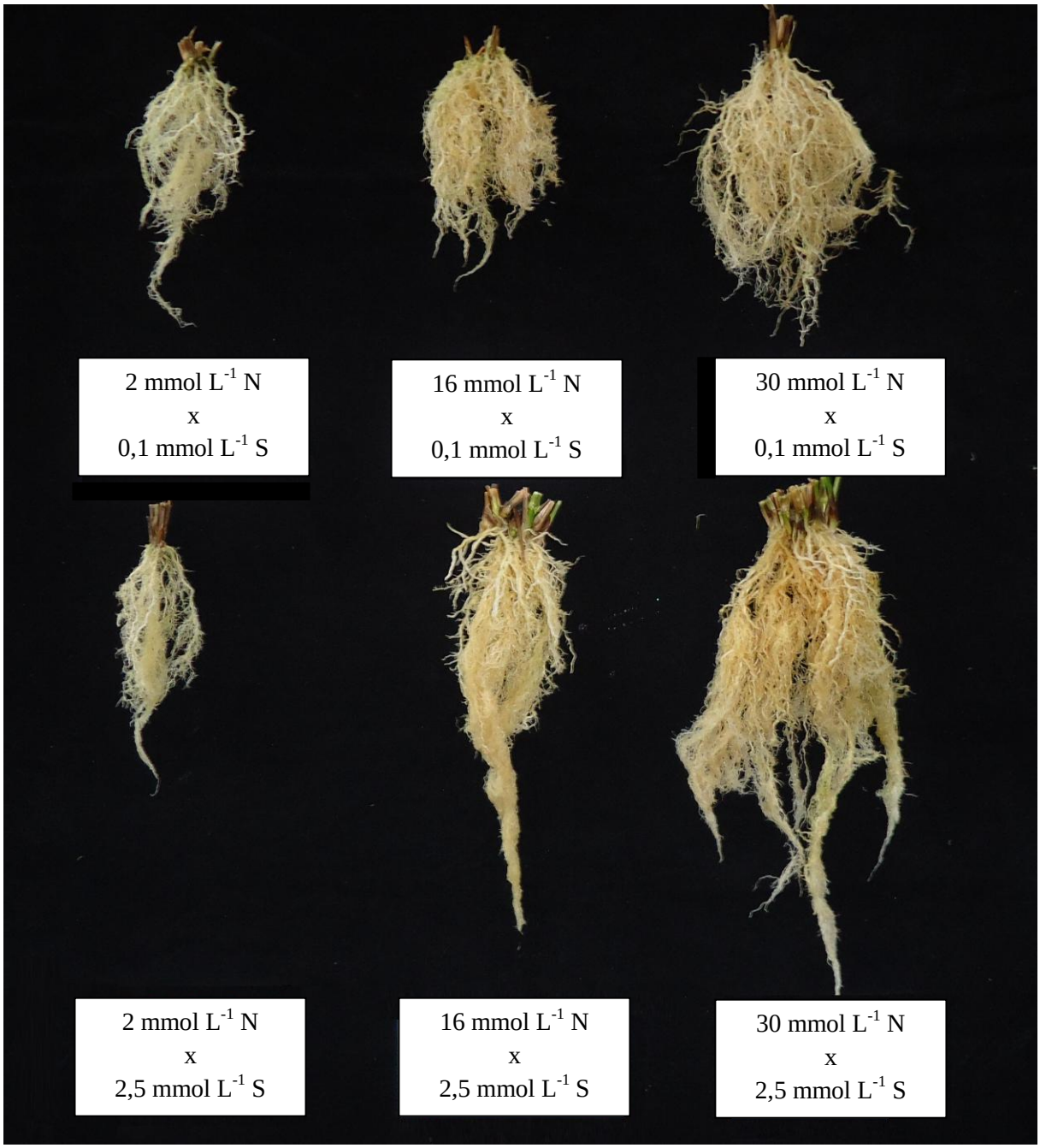


Figura 13 - Raízes de capim-piatã submetido a algumas combinações de doses de nitrogênio (N) e enxofre (S) na solução nutritiva

A formação e manutenção do sistema radicular vigoroso nas gramíneas forrageiras é essencial para a maximização da produção de massa seca da parte aérea e perenidade das

pastagens, uma vez que, além de serem responsáveis pela absorção de água, nutrientes e fixação das plantas ao substrato, as raízes disponibilizam carboidratos não estruturais e substâncias reguladoras do crescimento das plantas durante a rebrotação (BERTON, 2010). A desfolha da gramínea forrageira provoca súbita redução na atividade fotossintética e interrupção imediata do crescimento radicular das plantas (MACHADO, 2004). Segundo os mesmos autores, a rebrotação das gramíneas forrageiras após intensa desfolhação demanda a remobilização de substâncias de reserva das raízes e das bases do colmo (carboidratos não estruturais), uma vez que a energia total proveniente da fotossíntese realizada pelo remanescente de área foliar não é suficiente para a sobrevivência da planta. Quando a rebrotação adquire capacidade fotossintética própria, há a formação de carboidratos não estruturais, que ao se tornarem excedentes, migram para a base do colmo e sistema radicular da planta, reabastecendo suas reservas e preparando a planta para uma nova desfolhação (MACHADO, 2004). Dessa forma, é extremamente importante, que além de produzirem massa seca da parte aérea as plantas forrageiras tenham adequado desenvolvimento do sistema radicular.

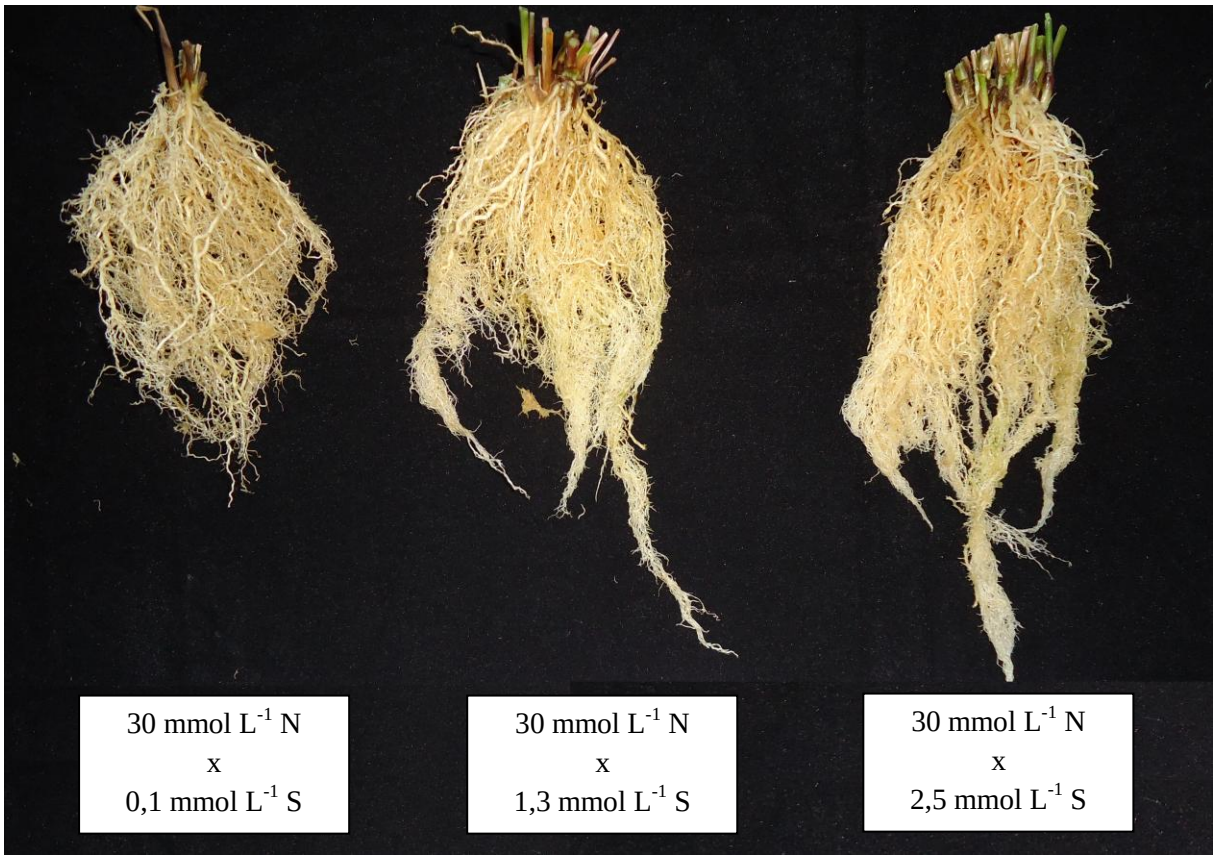


Figura 14 - Raízes de capim-piatã nas combinações de três doses de enxofre com a mais alta dose de nitrogênio na solução nutritiva

Manejos que conduzem à redução do sistema radicular nas plantas forrageiras demandam reformas mais constantes das pastagens, onerando o custo de produção. Por outro lado, o conhecimento prévio do crescimento e da distribuição do sistema radicular das gramíneas, pode orientar práticas que visem aumentar a perenidade e produtividade da pastagem no sistema de produção. No presente estudo, o fornecimento de altas doses de nitrogênio e de enxofre na solução nutritiva favoreceram o maior crescimento e desenvolvimento do sistema radicular do capim-piatã, o que teoricamente torna as plantas mais resistentes à desfolhação e persistentes nas pastagens.

4.3 Alterações nos parâmetros nutricionais das plantas

4.3.1 Redutase do nitrato

Para a atividade da enzima redutase do nitrato não foi significativa a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre, em ambos os crescimentos do capim-piatã. Por outro lado, foi constatado efeito significativo das doses de nitrogênio, com significância para o modelo linear de regressão na avaliação realizada no primeiro período de crescimento das plantas (Figura 15). Quando se analisa o resultado essa atividade enzimática da dose mais baixa para a dose mais alta de nitrogênio, o incremento na atividade dessa enzima foi de 1,2 vezes. Também foi constatada correlação positiva (correlação de Pearson e r = 0,72*) da atividade da redutase do nitrato com a produção de massa seca da parte aérea no primeiro período de crescimento das plantas.

Mengel e Kirkby (2001) relataram que a atividade da enzima redutase do nitrato é influenciada, além da luminosidade e da temperatura, pela concentração de nitrato no substrato. Trabalhos têm demonstrado que o nitrogênio estimula a atividade da redutase do nitrato em gramíneas forrageiras. Megda (2009), trabalhando com combinações de doses de nitrogênio e potássio na solução nutritiva para o capim-marandu, relatou que o nitrogênio influenciou a atividade *in vivo* dessa enzima e destacou que o incremento na dose de nitrogênio de 2 para 33 mmol L^{-1} incrementou a atividade da enzima em aproximadamente 80%. A relação positiva entre o aumento da atividade da redutase do nitrato com o incremento da concentração de nitrogênio na solução nutritiva também foi verificada nas folhas diagnósticas do capim-aruana (*Panicum maximum* cv. Aruana) por Lavres Junior e Monteiro (2006).

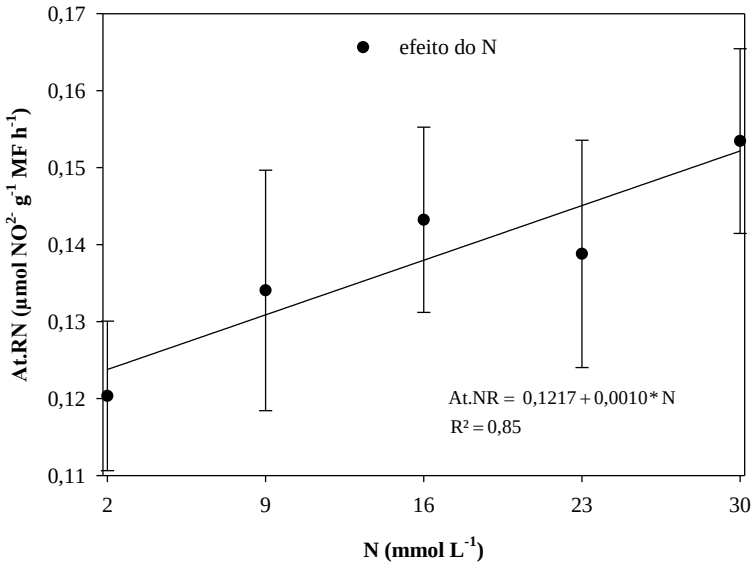


Figura 15 - Atividade da enzima redutase do nitrato (At.RN) determinada *in vivo* durante o primeiro crescimento do capim-piatã, em função das doses de nitrogênio (N) na solução nutritiva

As doses de enxofre não influenciaram a atividade da redutase do nitrato no presente estudo. Não foram encontrados na literatura trabalhos com gramíneas forrageiras em que houvesse resposta da atividade da redutase do nitrato em função do fornecimento de enxofre. Contudo, trabalhos com planta-modelo de cevada e tabaco (*Nicotiana tabacum*) mostraram resposta na atividade enzimática em função de doses de enxofre. De Bona et al. (2011) verificaram a necessidade do suprimento adequado de enxofre para manter a atividade da redutase do nitrato em cevada, quando o fornecimento de nitrogênio ao solo foi aumentado. Migge et al. (2000) relataram acentuada diminuição na atividade da redutase do nitrato em plantas de tabaco cultivadas sob privação de enxofre, onde após cinco ou seis semanas sem receber enxofre, a atividade da redutase do nitrato foi de apenas 10% da atividade enzimática máxima encontrada no início do experimento. Trabalhos envolvendo outras espécies vegetais também mostram mais baixa atividade da enzima redutase do nitrato sob condições de enxofre limitante no meio de crescimento (GIORDANO; PEZZONI; HELL, 2000; PROSSER et al., 2001).

No segundo período de crescimento do capim, a atividade da redutase do nitrato não foi influenciada pelas doses de nitrogênio e enxofre da solução nutritiva. As diferenças na atividade enzimática da redutase do nitrato existentes no presente experimento, entre o primeiro e segundo períodos de crescimento das plantas do capim-piatã, podem ser atribuídas às épocas de avaliação. Lavres Junior e Monteiro (2006) atribuíram as diferenças na atividade da redutase do nitrato nos dois crescimentos do capim-aruana, ao menor espaço de tempo entre o fornecimento de nitrogênio e a avaliação efetuada, o que, segundo os autores, favorece

a maior atividade enzimática. Com base em tal informação, a determinação enzimática foi realizada dois dias após a troca da solução nutritiva em ambos os períodos de crescimento das plantas. Dessa forma, no segundo crescimento, a determinação da atividade dessa enzima foi efetuada 16 dias após o primeiro corte. Contudo, durante o segundo período de crescimento o ciclo de desenvolvimento do capim-piatã foi de apenas 25 dias. Dessa forma, a determinação da atividade da redutase do nitrato pode não ter sido feita no momento mais adequado para se encontrar alterações enzimáticas em função do suprimento de nitrogênio.

4.3.2 Leitura SPAD

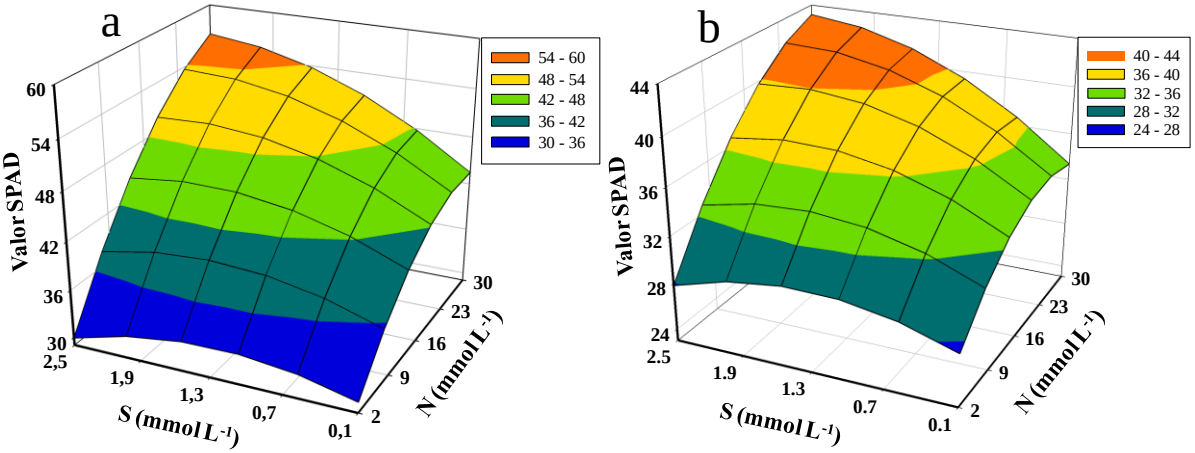
A interação doses de nitrogênio x doses de enxofre foi significativa para a variável-resposta SPAD, avaliada durante o primeiro e segundo crescimentos do capim-piatã (Figura 16). A leitura SPAD nas folhas diagnósticas atingiu valores máximos de 58,9 e 43,7 unidades SPAD no primeiro e segundo crescimentos, respectivamente. Tanto as doses de nitrogênio quanto as de enxofre que propiciariam as máximas leituras SPAD extrapolaram as testadas neste experimento. Comparando-se o ponto de máximo com a combinação das menores doses de nitrogênio e enxofre da solução nutritiva (2 e 0,1 mmol L^{-1}, respectivamente), constataram-se reduções de 54% e 63% no valor SPAD, respectivamente para o primeiro e segundo crescimento. Isto comprova a estreita relação existente entre o valor SPAD e o suprimento de nitrogênio e enxofre às plantas.

O aumento na disponibilidade de nitrogênio resulta em maior síntese da clorofila pelas plantas, incrementando a intensidade de cor verde nas folhas, que se reflete no aumento dos valores SPAD (BULLOCK; ANDERSON, 1998). Entre 50 a 70% de todo o nitrogênio das folhas está associado ao cloroplasto (CHAPMAN; BARRETO, 1997).

O valor SPAD é influenciado pelas doses de nitrogênio e trabalhos com gramíneas forrageiras demonstram que o máximo valor de SPAD varia entre 50 a 55 unidades, dependendo da espécie e do período de crescimento, sendo em geral menores no segundo crescimento. As doses de nitrogênio responsáveis por esses valores estão entre 29 e 33 mmol L^{-1} (SANTOS, 1997; LAVRES JUNIOR; MONTEIRO, 2006; MEGDA, 2009). Megda (2009) constatou que, no primeiro crescimento do capim-marandu, o valor SPAD na concentração de 2 mmol L^{-1} de nitrogênio atingiu valores correspondentes a 58% do valor SPAD obtido na concentração mais alta de nitrogênio utilizada. No referido estudo, o máximo valor encontrado no primeiro crescimento para o valor SPAD foi de 55 unidades, sendo que no segundo crescimento o valor SPAD apresentou resposta linear com o incremento das doses de nitrogênio, com valores entre 27 e 39 unidades SPAD.

Além da relação do nitrogênio com a clorofila, o enxofre também está envolvido na síntese da clorofila e na fotossíntese, como componente das ferredoxinas e tioredoxinas, que atuam no transporte de elétrons e na defesa antioxidante, respectivamente (MALAVOLTA, 2006). Trabalhos com gramíneas forrageiras têm encontrado correlação do suprimento de enxofre e de nitrogênio junto com enxofre e os valores SPAD (SANTOS, 1997; BATISTA; MONTEIRO, 2008; ARTUR, 2010).

No segundo período de crescimento, as leituras SPAD nas folhas do capim mostraram valores mais baixos do que no primeiro período, concordando com outros trabalhos de pesquisa (SANTOS, 1997; MEGDA, 2009). Isto pode ter ocorrido em razão da maior produção de massa seca da parte aérea e área foliar no segundo período de crescimento, que pode ter resultado em diluição do nitrogênio e enxofre no tecido vegetal e consequente em menor concentração de clorofila, a qual foi indicada no clorofilômetro como menor intensidade da cor verde.



$$SPAD = 27{,}6859 + 1{,}1282^{**}N - 0{,}0212^{**}N^2 + 4{,}3343^{**}S - 1{,}8819^{**}S^2 + 0{,}1971^{**}NS \quad (R^2 = 0{,}95)$$

$$SPAD = 25{,}7777 + 0{,}6644^{**}N - 0{,}0146^{**}N^2 + 3{,}8323^{**}S - 1{,}5204^{**}S^2 + 0{,}1403^{**}NS \quad (R^2 = 0{,}93)$$

Figura 16 - Valor SPAD em lâminas de folhas diagnósticas no primeiro (a) e segundo (b) crescimentos do capim-piatã submetido a combinações de doses de nitrogênio (N) e enxofre (S) na solução nutritiva

A combinação da dose mais alta de nitrogênio com a dose mais alta de enxofre promoveu incremento de 1,3 vezes no valor SPAD nos dois períodos de crescimento do capim-piatã, quando comparada à combinação de alta dose de nitrogênio com a mais baixa dose de enxofre na solução nutritiva. Lunde et al. (2008) relataram que o teor de clorofila e de Rubisco em plantas de arroz carentes em enxofre foram, respectivamente, duas e seis vezes menor do que nas plantas cultivadas em condição adequada de enxofre, devido à diminuição na atividade dos fotossistemas I e II da fotossíntese. Friedrich e Schrader (1978) mostraram

que plantas deficientes em enxofre têm menores taxa fotossintética e concentração de clorofila nas folhas e, ainda, apresentam desarranjo dos cloroplastos, o que se reflete em menor intensidade da cor verde das folhas e em menor valor SPAD.

Segundo Nikiforova et al. (2004), plantas sob deficiência de enxofre desencadeiam uma série de respostas ao estresse, com grandes alterações no metabolismo geral, que incluem mudanças fisiológicas e morfológicas, como a diminuição na concentração da clorofila, além do aumento da relação raízes:parte aérea e acúmulo de antocianinas.

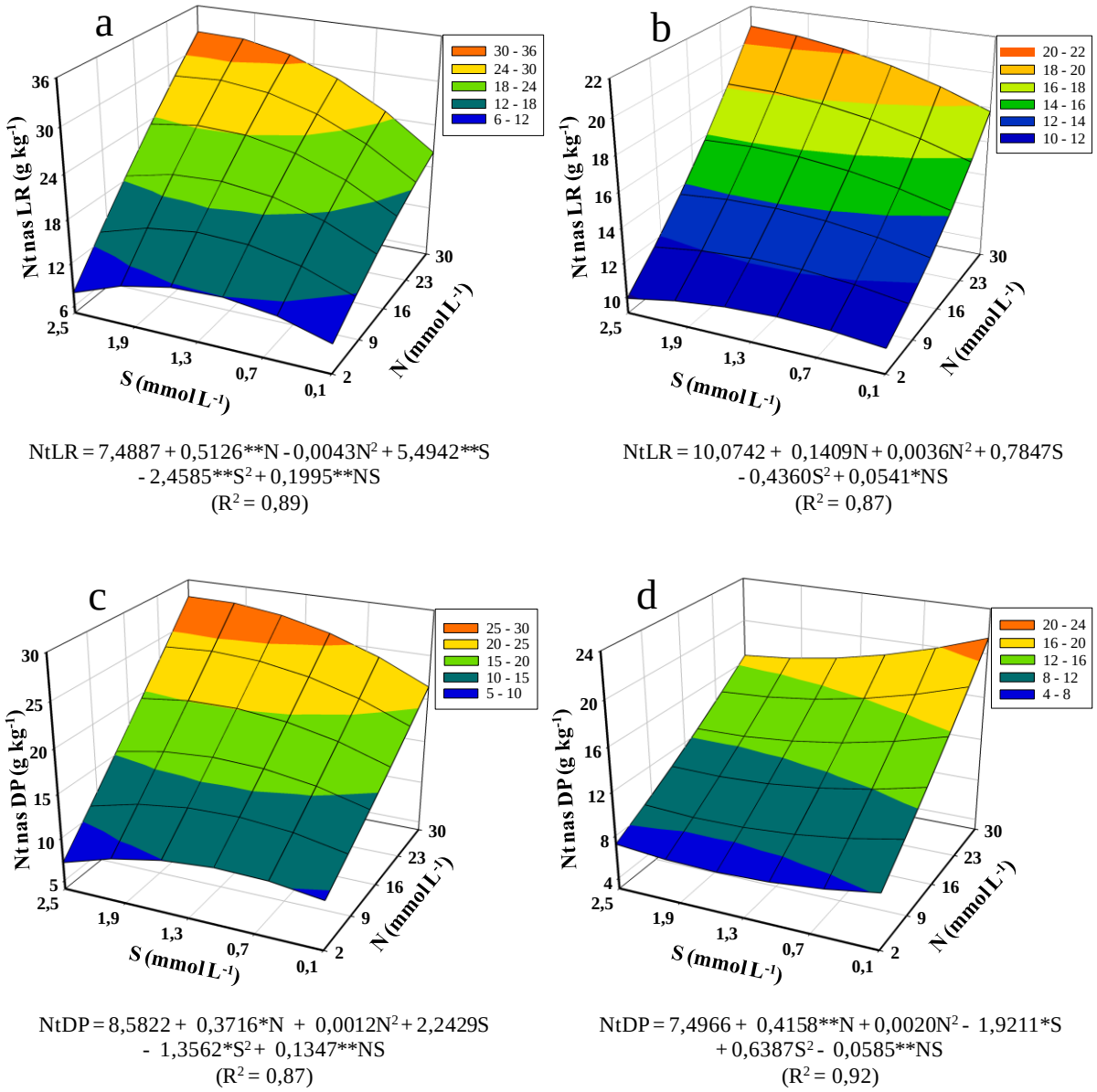
A leitura SPAD e a concentração de nitrogênio nas folhas diagnósticas do capim-piatã mostraram correlação positiva, com coeficientes de correlação de Pearson de r = 0,98** e 0,90**, para o primeiro e segundo crescimentos, respectivamente. Essa correlação positiva entre a concentração de clorofila na folha e a concentração de nitrogênio em plantas forrageiras também foi constatada por outros autores (LAVRES JUNIOR; MONTEIRO, 2006; MEGDA, 2009; ARTUR, 2010). Debaeke, Rouet e Justes (2006), trabalhando com cinco cultivares de trigo (*Triticum durum*) em vários estádios de crescimento, encontraram correlação positiva entre a concentração de nitrogênio e valor SPAD na planta, independente do cultivar e do estágio de desenvolvimento das plantas.

Os valores SPAD obtidos nas folhas diagnósticas do capim-piatã também mostraram correlação positiva com a produção de massa seca da parte aérea, com coeficiente de correlação de Pearson de r = 0,83** e 0,95** no primeiro e segundo cortes, respectivamente. Wang et al. (2003) também encontraram relação entre a concentração de clorofila determinada pelo clorofilômetro e a produção de massa seca da parte aérea e a massa seca total de plantas de alfafa cultivadas sob doses de enxofre.

O clorofilômetro pode ser utilizado para predizer o estado nutricional de plantas de capim-piatã quanto ao fornecimento de nitrogênio, principalmente para detectar o aparecimento inicial de deficiência. Trabalhos que reportem valores SPAD críticos para plantas forrageiras são escassos e os valores SPAD podem variar conforme a época do ano, espécie amostrada e influência de outros nutrientes, como ocorreu no presente estudo para o enxofre, que pode ter sua deficiência indicada principalmente quando forem fornecidas doses elevadas de nitrogênio à pastagem.

4.3.3 Nitrogênio total

As concentrações de nitrogênio quantificadas nas folhas diagnósticas (LR) e demais componentes da parte aérea (FE+LM+CB) coletados nos dois cortes do capim-piatã mostraram significância para a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre (Figura 17).



$NtLR = 7,4887 + 0,5126^{**}N - 0,0043N^2 + 5,4942^{**}S - 2,4585^{**}S^2 + 0,1995^{**}NS$
($R^2 = 0,89$)

$NtLR = 10,0742 + 0,1409N + 0,0036N^2 + 0,7847S - 0,4360S^2 + 0,0541^{*}NS$
($R^2 = 0,87$)

$NtDP = 8,5822 + 0,3716^{*}N + 0,0012N^2 + 2,2429S - 1,3562^{*}S^2 + 0,1347^{**}NS$
($R^2 = 0,87$)

$NtDP = 7,4966 + 0,4158^{**}N + 0,0020N^2 - 1,9211^{*}S + 0,6387S^2 - 0,0585^{**}NS$
($R^2 = 0,92$)

Figura 17 - Concentração de nitrogênio total (Nt) nas lâminas de folhas recém-expandidas (LR) (a e b) e nas demais partes das plantas (DP) (c e d) coletadas no primeiro (a e c) e segundo (b e d) cortes do capim-piatã, em função das combinações de doses de nitrogênio (N) e enxofre (S) na solução nutritiva

Nas folhas diagnósticas do capim-piatã, a concentração de nitrogênio foi maior quando se forneceu altas doses de nitrogênio e de enxofre na solução nutritiva nos dois cortes do capim (Figura 17 a, b). Na dose de nitrogênio de 30 mmol L^{-1} combinada com a de enxofre de 2,5 mmol L^{-1} houve incremento de 3,6 e 2 vezes na concentração de nitrogênio nas folhas diagnósticas para o primeiro e segundo cortes, respectivamente, quando comparada com a combinação das mais baixas doses de ambos os nutrientes (2 e 0,1 mmol L^{-1}, respectivamente). A influência do enxofre na concentração de nitrogênio na parte aérea do capim-piatã provavelmente ocorreu porque esse nutriente promoveu maior absorção de

nitrogênio (SALVAGIOTTI et al., 2009), aumentando a concentração desse nutriente nos tecidos foliares das plantas.

Batista e Monteiro (2007) também constataram estreita relação entre a concentração de nitrogênio nas folhas diagnósticas com o suprimento de nitrogênio na solução nutritiva, e observaram variação de 16 a 26 g kg^{-1} no capim-marandu, com o fornecimento das mais baixas até as mais altas doses de nitrogênio (1 a 33 mmol L^{-1}). No referido estudo, os autores não constataram o efeito do fornecimento de doses de enxofre (0,1 a 2,5 mmol L^{-1}) na concentração de nitrogênio nos tecidos foliares das plantas. Também, trabalhos em Neossolo Quartzarênico com o mesmo capim, encontraram significância para a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre no primeiro (DE BONA; MONTEIRO, 2010a) e terceiro cortes das gramíneas (ARTUR, 2010), como o encontrado no presente estudo para os dois cortes do capim-piatã.

A concentração de nitrogênio nas folhas diagnósticas do capim-piatã apresentou relação significativa e positiva com a produção relativa de massa seca da parte aérea obtida no primeiro e no segundo cortes das plantas (Figura 18). Os valores críticos (90% da máxima produção relativa) da concentração de nitrogênio nas folhas diagnósticas das plantas de capim-piatã foram de 21,0 e 18,3 g kg^{-1}, no primeiro e segundo cortes, respectivamente. Esses resultados estão em concordância com os encontrados em outros trabalhos, que indicam que o nível crítico de nitrogênio para diversos capins tropicais está na faixa de 14,4 a 22 g kg^{-1} (SANTOS, 1997; COLOZZA, 1998; MANARIN, 2000).

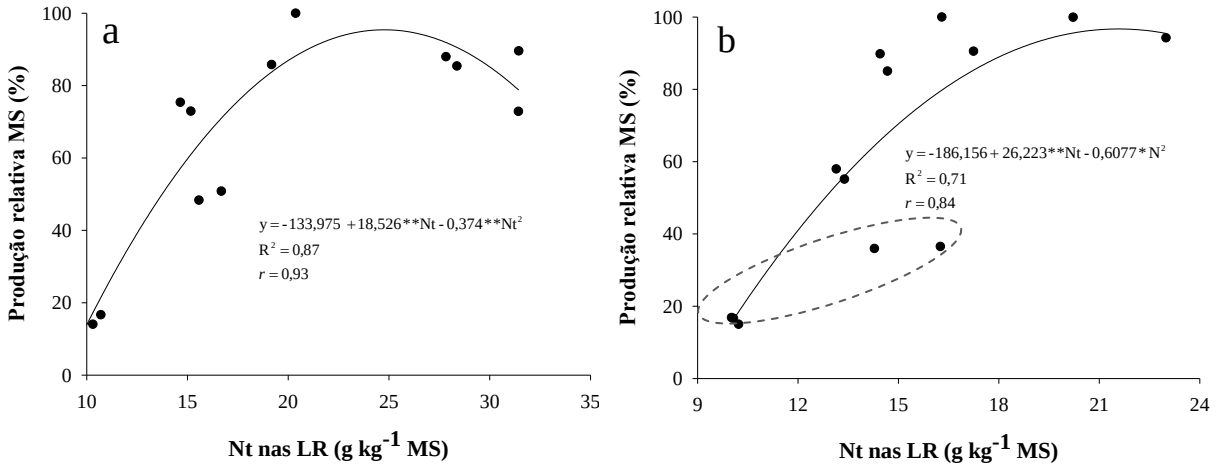


Figura 18 - Correlação entre a produção relativa de massa seca (MS) da parte aérea com a concentração de nitrogênio total (Nt) nas folhas diagnósticas (LR) do capim-piatã, no primeiro (a) e no segundo (b) cortes

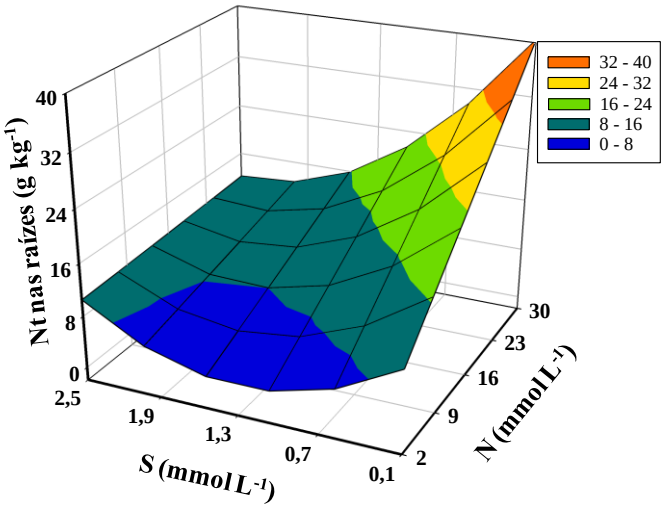
Cabe destacar que, no segundo corte, as plantas crescidas na mais baixa dose de enxofre na solução nutritiva (0,1 mmol L^{-1}), em todas as combinações com as doses de nitrogênio, foram responsáveis pela maior dispersão dos pontos da correlação (destacadas na Figura 18 b dentro da linha pontilhada). Dessa forma, é possível inferir que plantas com baixas disponibilidades de enxofre, mesmo sob alto suprimento de nitrogênio não atingem o nível crítico de nitrogênio nas folhas diagnósticas do capim-piatã, não permitindo a otimização da produção das pastagens.

Para os cultivares de *Brachiaria brizantha*, Werner et al. (1996) reportaram que concentrações médias de nitrogênio para obtenção das maiores produções de massa seca devem ser superiores a 13 g kg^{-1}. Para tal diagnóstico os autores apontaram que as plantas foram amostradas simulando o pastejo animal. Por outro lado, estudos avaliando as folhas diagnósticas dos capins (LR), têm indicado que a produção de massa seca da parte aérea aquém da desejada ocorre com concentrações de nitrogênio de 14 g kg^{-1} para capim-aruana (LAVRES JUNIOR; MONTEIRO, 2006) e de 13 a 16 g kg^{-1} para capim-marandu (BATISTA; MONTEIRO, 2007; MEGDA, 2009). No presente estudo as menores produções de massa seca do capim-piatã ocorreram com concentração de nitrogênio nas folhas diagnósticas próxima a 11 g kg^{-1}.

A concentração de nitrogênio nas demais partes (DP) das plantas foi, em geral, menor do que a concentração de nitrogênio nas folhas diagnósticas (LR). Incluem-se nas demais partes das plantas as lâminas foliares emergentes (que usualmente apresentam mais altas concentrações de nitrogênio do que as demais partes das plantas) os colmos + bainhas e as lâminas de folhas maduras (que apresentam as menores concentrações de nitrogênio, devido à remobilização do nutriente que ocorre das folhas mais velhas para as folhas mais novas) (WHITEHEAD, 2000; BATISTA, 2002).

A concentração de nitrogênio quantificada no sistema radicular das plantas do capim-piatã mostrou significância para a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre (Figura 19). A concentração de nitrogênio no sistema radicular das plantas de capim-piatã variou de 7,3 a 41,9 g kg^{-1}, sendo as maiores concentrações encontradas nas combinações de altas doses de nitrogênio com baixas doses de enxofre (Figura 19), as quais resultaram em pouco crescimento e grande concentração de nitrogênio no sistema radicular das plantas. Por outro lado, a combinação das mais altas doses de nitrogênio e de enxofre não apresentou alta concentração de nitrogênio. Nessa combinação de doses dos dois nutrientes o capim apresentou a mais elevada produção de massa seca (Figura 8), o que acabou diluindo a

quantidade de nitrogênio absorvida pelas plantas, de modo semelhante ao ocorrido na parte aérea do capim.



$$NtR = 9{,}7657 + 1{,}0993^{**}N + 0{,}0003N^2 - 13{,}5491^{**}S + 5{,}5303^{**}S^2 - 0{,}42128^{*}NS$$
$$(R^2 = 0{,}90)$$

Figura 19 - Concentração de nitrogênio total (Nt) nas raízes do capim-piatã, em função das combinações de doses de nitrogênio (N) e enxofre (S) na solução nutritiva

Batista e Monteiro (2006b) constataram que a concentração de nitrogênio nas raízes de capim-marandu apresentou variação de 2,4 a 29,5 g kg^{-1}. A dose de 33 mmol L^{-1} de nitrogênio combinada com as doses de enxofre entre 2,2 e 2,5 mmol L^{-1} proporcionaram as máximas concentrações de nitrogênio nas raízes daquela gramínea forrageira.

Artur (2010) não encontrou resposta do suprimento de enxofre na concentração de nitrogênio das raízes do capim-marandu cultivado em Neossolo Quartzarênico. Provavelmente, o teor de enxofre no solo foi suficiente para atender a demanda das raízes e não alterar o metabolismo do nitrogênio. Entretanto, constatou que o fornecimento de doses de nitrogênio alterou a concentração de nitrogênio no sistema radicular das plantas, tendo a dose mais alta de nitrogênio aplicada aumentado a concentração de nitrogênio nas raízes em 3,3 vezes em relação à concentração de nitrogênio na não aplicação desse nutriente. Colozza et al. (2000) encontraram aumento linear da concentração de nitrogênio em raízes de capim-aruana com o incremento das doses de nitrogênio e relataram que as raízes podem funcionar como órgão armazenador desse nutriente, em condições de alto teor de nitrogênio no solo.

Nas baixas doses de nitrogênio (2 e 9 mmol L^{-1}), a concentração de nitrogênio nas raízes do capim variou de 3 a 18 g kg^{-1}, dependendo da dose de enxofre fornecida. Em estudo realizado em Minnesota, EUA, com cinco espécies de gramíneas crescidas sem adubação nitrogenada, Wedin e Tilman (1990) relataram que a concentração de nitrogênio do sistema

radicular das plantas crescidas sem fertilização nitrogenada variou de 5 a 18 g kg^{-1}. Esses resultados são muito similares aos encontrados no presente estudo.

4.3.4 Nitrogênio na forma inorgânica (nitrato e amônio)

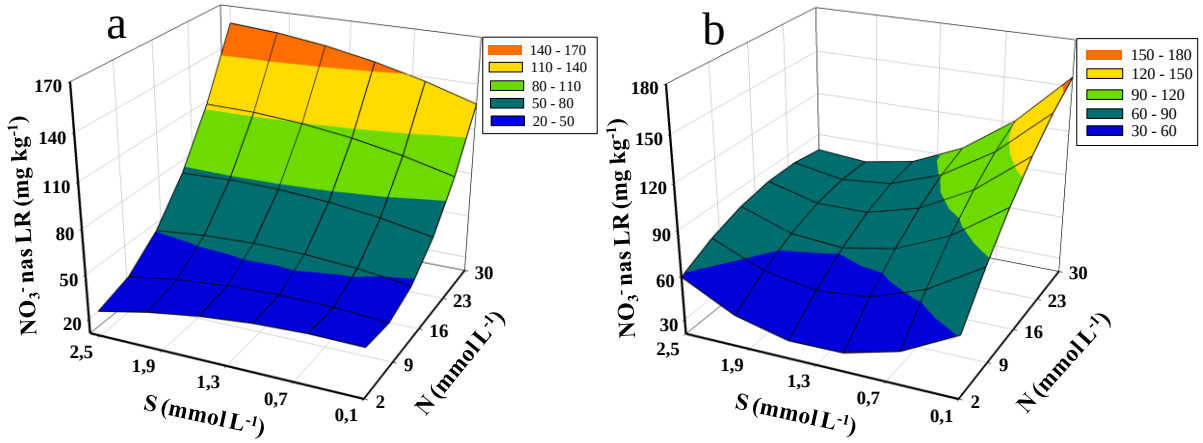
Para a concentração de nitrogênio na forma inorgânica de nitrato determinada nas folhas diagnósticas do capim-piatã amostradas no primeiro e segundo cortes das plantas foi constatada significância para a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre (Figura 20). As concentrações de nitrato variaram de 27 a 159 mg kg^{-1} e de 31 a 156 mg kg^{-1}, nessas lâminas foliares, no primeiro e segundo cortes, respectivamente.

Normalmente, a maior parte do nitrogênio nos tecidos da planta está na forma orgânica, enquanto uma pequena fração é encontrada na forma de nitrato e amônio. Porém, quando o nitrato é a principal fonte de nitrogênio para a planta, a concentração de nitrogênio na forma de nitrato no tecido vegetal, embora seja baixa, pode ser usada para indicar se o fornecimento desse nutriente está adequado (WHITEHEAD, 2000). Segundo o mesmo autor, estimativas da concentração crítica de nitrato em folhas novas de gramíneas mostram valores que variam de 50 a 150 mg kg^{-1}. No presente estudo as concentrações de nitrato ficaram muito próximas a esses valores.

No primeiro corte, a maior concentração de nitrato (159 mg kg^{-1}) foi verificada na combinação da dose mais elevada de nitrogênio com as doses mais elevadas de enxofre (30 e 2,5 mmol L^{-1}, respectivamente). Contudo, no segundo corte foi detectada maior concentração de nitrato (156 mg kg^{-1}) nas folhas diagnósticas cultivadas em altas doses de nitrogênio e baixas doses de enxofre (30 e 0,1 mmol L^{-1}, respectivamente). A concentração de nitrato nas folhas diagnósticas do capim-piatã no primeiro corte foi, em geral, maior do que a obtida no segundo corte, para a maioria das combinações de doses de nitrogênio e enxofre. Isso ocorreu devido à maior utilização do nitrato para a produção de folhas e perfilhos durante a rebrotação das plantas, que resultaram em maior produção de massa seca no segundo corte, e consequentemente menor quantidade de nitrato concentrada nas folhas diagnósticas do capim-piatã. Foi significativa a correlação entre a concentração de nitrato nas folhas diagnósticas e a produção de massa seca da parte aérea somente no segundo corte cortes da gramínea (r = 0,60*).

No presente estudo verificou-se maior concentração de nitrato em condições limitantes de enxofre durante o segundo período de crescimento das plantas (Figura 20), especialmente quando se forneceram altas doses de nitrogênio. Relatos na literatura indicam que altas doses de nitrogênio combinadas com baixas doses de outros nutrientes resultam em maior

concentração de nitrato no tecido vegetal. Essa mais alta concentração de nitrato com suprimento limitante de enxofre foi descrita para milho (FRIEDRICH; SCHRADER, 1978), tabaco (MIGGE et al., 2000), espinafre (*Spinacea oleraceae*) (PROSSER et al., 2001) e cevada (DE BONA et al., 2011).



$NO_3^- = 46,1885 - 1,9756N + 0,15296^{**}N^2 + 2,5716S - 4,1567S^2 + 0,7129^{*}NS$
($R^2 = 0,79$)

$NO_3^- = 56,1515 + 5,2506^{**}N - 0,0550N^2 - 51,1475^{*}S + 20,1868^{**}S^2 - 1,1207^{*}NS$
($R^2 = 0,57$)

Figura 20 - Concentração de nitrato (NO_3^-) nas lâminas de folhas recém-expandidas (LR) colhidas no primeiro (a) e segundo (b) cortes do capim-piatã, em função das combinações de doses de nitrogênio (N) e de enxofre (S) na solução nutritiva

A interação doses de nitrogênio x doses de enxofre nos dois cortes das plantas não foi significativa para a concentração de nitrogênio inorgânico na forma de amônio, presente nas folhas diagnósticas do capim-piatã. Contudo, verificou-se efeito significativo das doses de nitrogênio na concentração de amônio nessas lâminas foliares, com ajuste dos resultados ao modelo linear de regressão, no primeiro e segundo cortes das plantas (Figura 21). O aumento no fornecimento de nitrogênio (70% como nitrato e 30% como amônio) na solução nutritiva elevou a disponibilidade de amônio que foi incrementado nos tecidos foliares (LR) das plantas (Figura 21). Não foi verificado efeito do enxofre na concentração de amônio nas folhas diagnósticas do capim-piatã, nos dois cortes avaliados.

As concentrações de amônio no tecido vegetal variaram de 62 a 123 mg kg^{-1} e de 76 a 98 mg kg^{-1} nas folhas diagnósticas coletadas no primeiro e segundo cortes do capim, respectivamente. Geralmente a quantidade de amônio concentrada nos tecidos vegetais é baixa, uma vez que elevadas concentrações de amônio (e consequentemente amônia) resultam em intoxicações nas plantas. Em metabolismo normal da planta, o amônio que fica livre na célula é incorporado a aminoácidos por meio das atividades da glutamina sintetase (GS) e da glutamato desidrogenase (GDH) (TAIZ; ZEIGER, 2009).

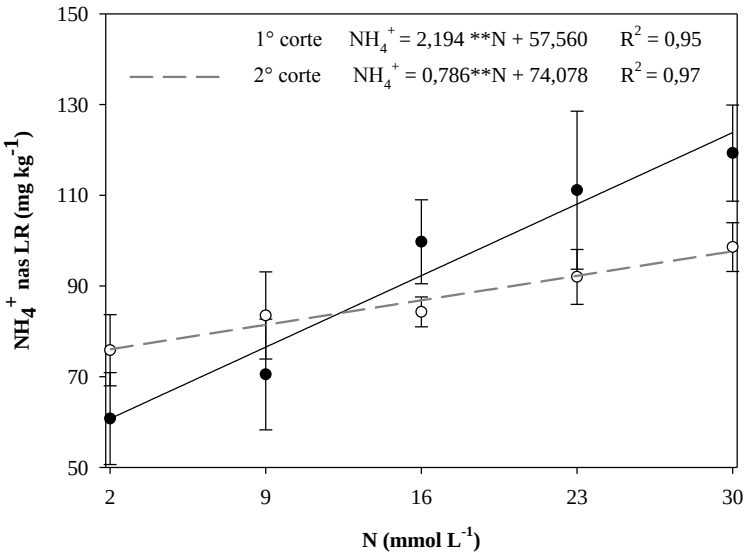
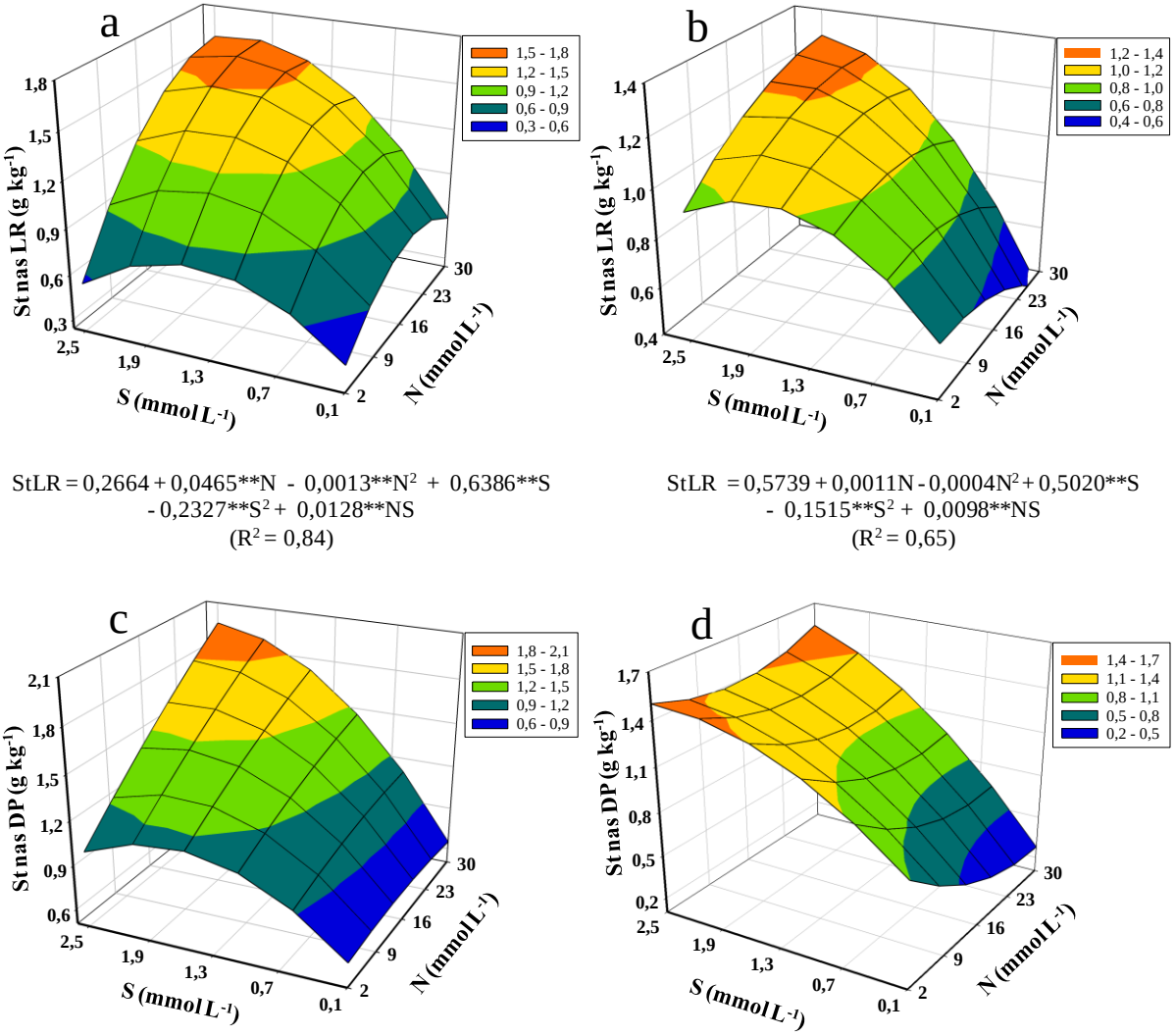


Figura 21 - Concentração de amônio (NH_4^+) nas lâminas de folhas recém-expandidas (LR) colhidas no primeiro e segundo cortes do capim-piatã, em função das doses de nitrogênio (N) na solução nutritiva

No segundo corte do capim-piatã, doses de nitrogênio acima de 12 mmol L^{-1} resultaram em valores de concentrações de amônio nas folhas diagnósticas menores do que os encontrados nas amostras do primeiro corte (Figura 21). Provavelmente, o amônio contido nas lâminas foliares recém-expandidas foi convertido mais eficientemente em aminoácidos e, consequentemente em proteínas, o que se traduziu em maior crescimento vegetal, contabilizado pelo maior número de perfilhos e de folhas e maiores área foliar e produção de massa seca do capim-piatã no segundo corte do que no primeiro.

4.3.5. Enxofre total

A concentração de enxofre total quantificada nos componentes da parte aérea mostrou significância para a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre nos dois cortes do capim-piatã (Figura 22). A máxima concentração de enxofre total nas folhas diagnósticas coletadas no primeiro corte foi de 1,64 g kg^{-1} e foi obtida com a combinação de 29,2 e 2,2 mmol L^{-1} de doses de nitrogênio e enxofre, respectivamente, enquanto no segundo corte essa concentração máxima seria de 1,37 g kg^{-1}, e somente seria atingida com doses de nitrogênio e enxofre superiores às estudadas neste experimento. Nos demais componentes da parte aérea (FE+LM+CB) a concentração de enxofre total nos tecidos foliares variou de 0,65 a 1,96 e de 0,28 a 1,64 g kg^{-1} no primeiro e segundo cortes, respectivamente.



$StLR = 0,2664 + 0,0465^{**}N - 0,0013^{**}N^2 + 0,6386^{**}S - 0,2327^{**}S^2 + 0,0128^{**}NS$
$(R^2 = 0,84)$

$StLR = 0,5739 + 0,0011N - 0,0004N^2 + 0,5020^{**}S - 0,1515^{**}S^2 + 0,0098^{**}NS$
$(R^2 = 0,65)$

$StDP = 0,5909 + 0,0045N - 0,0002N^2 + 0,6502^{**}S - 0,2053^{**}S^2 + 0,0143^{**}NS$
$(R^2 = 0,87)$

$StDP = 0,8307 - 0,0422^{**}N + 0,0007^{*}N^2 + 0,5924^{**}S - 0,1231^{**}S^2 + 0,0085^{**}NS$
$(R^2 = 0,87)$

Figura 22 - Concentração de enxofre total (St) nas lâminas de folhas recém-expandidas (LR) (a e b) e nas demais partes das plantas (DP) (c e d) colhidas no primeiro (a e c) e segundo (b e d) cortes do capim-piatã, em função das combinações de doses de nitrogênio (N) e enxofre (S) na solução nutritiva

Altas disponibilidades de nitrogênio e de enxofre na solução nutritiva promoveram as maiores concentrações de enxofre total nas folhas diagnósticas em ambos os cortes do capim (Figura 22 a, b). Nessa condição as plantas cresceram mais e, provavelmente, demandaram maior quantidade de enxofre disponível na solução nutritiva, devido à maior exigência da planta, aumentando assim sua concentração no tecido foliar. O mesmo tipo de resposta foi encontrado nos demais componentes da parte aérea do capim-piatã no primeiro corte (Figura 22c). Contudo, no segundo corte o fornecimento de elevadas doses de enxofre proporcionou as maiores concentrações de enxofre total nos demais componentes da parte aérea das plantas, tanto na mais baixa quanto na mais alta disponibilidade de nitrogênio na solução nutritiva

(Figura 22d). Isso ocorreu, pois as plantas produziram maiores quantidades de massa seca no segundo corte do que em relação ao primeiro, o que elevou a exigência da planta pelo nutriente.

De Bona e Monteiro (2010a) encontraram efeitos isolados das doses de nitrogênio e/ou de enxofre na concentração de enxofre total nas folhas diagnósticas coletadas em três cortes do capim-marandu. Os autores relataram que a adubação com enxofre promoveu incrementos lineares na concentração de enxofre total das folhas diagnósticas do capim, com variação de 0,6 a 1,5 g kg^{-1}. Também apontaram que a adubação nitrogenada influenciou positivamente a concentração de enxofre total nas folhas diagnósticas, daquele capim. Segundo os autores esse efeito do fornecimento de nitrogênio reflete as variações ocorridas na produção de massa seca da parte aérea em função da adubação nitrogenada, o que resultou na diluição do nutriente no tecido foliar.

Bonfim-da-Silva e Monteiro (2010) não encontraram efeito significativo da adubação nitrogenada na concentração de enxofre total nas folhas diagnósticas do capim-braquiária, mas obtiveram aumento linear na concentração de enxofre total nessas lâminas foliares, com o incremento das doses de enxofre fornecidas em dois períodos de crescimento do capim.

A concentração de enxofre total nas folhas diagnósticas e a produção relativa de massa seca da parte aérea do capim-piatã apresentaram correlação significativa e positiva com coeficientes de correlação de Pearson da ordem de r= 0,90** e 0,61*, para o primeiro e segundo cortes, respectivamente (Figura 23).

No primeiro corte a correlação entre a concentração de enxofre total nas folhas diagnósticas e a produção relativa de massa seca da parte aérea do capim-piatã explicou aproximadamente 80% da produção de massa seca das plantas, mostrando-se a concentração de enxofre total bom indicador do estado nutricional do enxofre nas plantas. Contudo, no segundo corte a influência das doses de nitrogênio na concentração de enxofre nas folhas diagnósticas do capim-piatã foi mais pronunciada, o que, diminuiu a sua correlação com a produção relativa de massa seca da parte aérea das plantas. A mais baixa dose de nitrogênio empregadas na solução nutritiva (2 mmol L^{-1}), foi responsável pela maior dispersão dos pontos, que são representados na Figura 22b dentro de uma elipse, comparada com as demais doses de enxofre da solução nutritiva. Retirando-se esses pontos correspondentes às baixas doses de nitrogênio, o coeficiente de correlação atinge valor bem mais elevado e comparável ao do primeiro corte (r=0,80). Observou-se, portanto, que o fornecimento de baixa dose de nitrogênio na solução nutritiva dificulta o diagnóstico nutricional do enxofre nas folhas diagnósticas do capim-piatã, na fase de rebrotação das plantas.

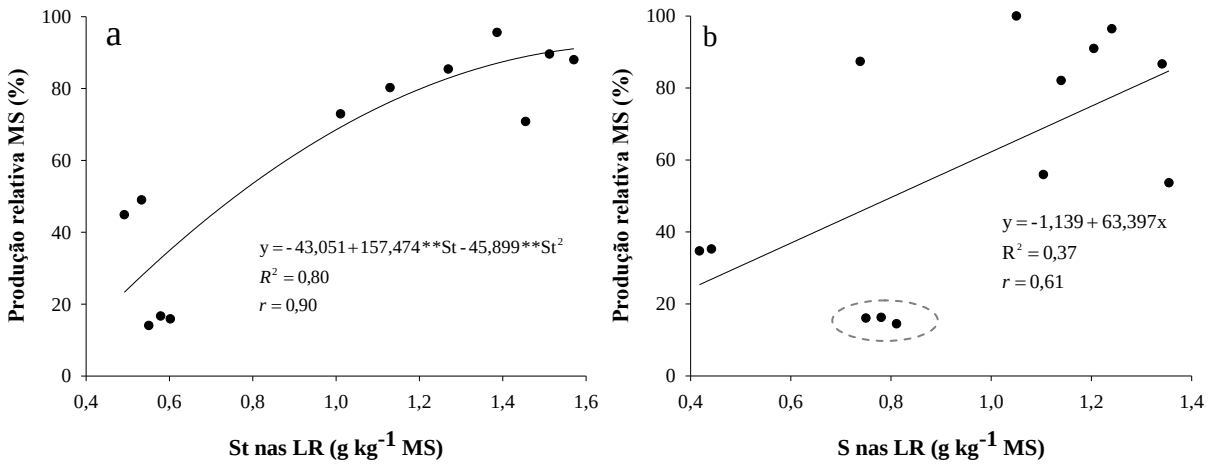
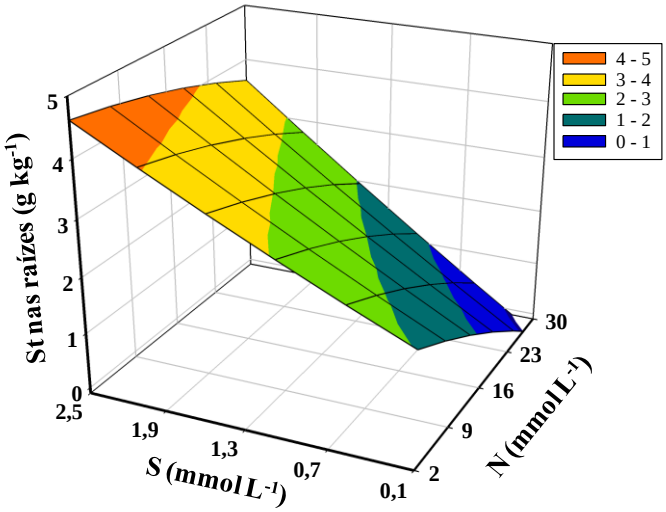


Figura 23 - Correlação entre a produção relativa de massa seca (MS) da parte aérea com a concentração de enxofre total (St) nas folhas diagnósticas (LR) do capim-piatã, no primeiro (a) e no segundo (b) cortes

A utilização da concentração de enxofre total nos tecidos foliares para diagnóstico do estado nutricional do enxofre nas plantas, incluindo as gramíneas forrageiras, enfrenta algumas objeções em razão da variação nessa concentração com a fase de crescimento das plantas, tecido amostrado, entre outros fatores (SPENCER; FRENEY; JONES, 1984, DUKE; REISENAUER, 1986). Contudo, Haneklaus et al. (2007) destacaram que esse problema pode ocorrer com outros métodos de diagnose de estado nutricional do enxofre (relação Nt:St, enxofre-sulfato, relação enxofre-sulfato: enxofre total, glutationa) e enfatizam que isso só pode ser superado com determinação rigorosa de valores críticos para órgãos de plantas amostrados em estágios de desenvolvimento específicos. Os autores ainda relataram que se esse procedimento for rigorosamente seguido a concentração de enxofre total tem a vantagem em relação aos demais métodos por ser menos influenciado em curto prazo pelas alterações fisiológicas que afetam facilmente outras frações de enxofre (como enxofre-sulfato e glutationa). No presente estudo, a concentração de enxofre total se mostrou boa indicadora do estado nutricional do capim-piatã no primeiro e segundo cortes, mesmo com a influência das doses de nitrogênio na solução nutritiva, que juntamente com a utilização de doses de enxofre promoveu incremento na produção de massa seca, diluindo assim a concentração do enxofre total no tecido vegetal.

Para a concentração de enxofre nas raízes do capim-piatã verificou-se significância da interação doses de nitrogênio x doses de enxofre. Elevadas concentrações de enxofre nas raízes do capim foram obtidas nas combinações de baixas doses de nitrogênio com doses elevadas de enxofre (Figura 24). Não foi possível encontrar os valores de máxima concentração de enxofre nos tecidos radiculares do capim-piatã, mas a concentração obtida na

combinação da dose de nitrogênio de 2 mmol L^{-1} (mais baixa dose) com a de enxofre de 2,5 mmol L^{-1} (mais alta dose) atingiu 4,6 g kg^{-1}. Esse valor atesta a acumulação de enxofre nas raízes, na condição de limitação de crescimento pela falta de nitrogênio.



$$StR = 1,9972 - 0,0658*N - 0,0006N^2 + 0,9492**S + 0,0457S^2 + 0,0195*NS$$
$$(R^2 = 0,90)$$

Figura 24 - Concentração de enxofre total (St) nas raízes (R) do capim-piatã, em função das combinações de doses de nitrogênio (N) e enxofre (S) na solução nutritiva

Segundo Whitehead (2000), as concentrações de enxofre total nas raízes de gramíneas geralmente variam de 1,3 a 2,2 g kg^{-1} e são frequentemente incrementadas por altas doses de fertilizante com enxofre. A maior parte do sulfato absorvido pelas raízes é preferencialmente transportada para a parte aérea das plantas, onde esse ânion é reduzido e assimilado em compostos orgânicos, sendo apenas pequena quantidade do enxofre retida nas raízes (WHITEHEAD, 2000). Contudo, Bonfim-da-Silva e Monteiro (2010) reportaram que a concentração de enxofre no sistema radicular das plantas de capim-braquiária submetida às combinações de doses de nitrogênio e de enxofre foi maior do que a encontrada na parte aérea das plantas, indicando que o capim-braquiária concentra mais enxofre nas raízes do que na parte aérea.

No presente estudo, condição de baixa disponibilidade de nitrogênio (2 mmol L^{-1}) combinada com baixas e altas doses de enxofre (0,1; 1,3 e 2,5 mmol L^{-1}) e disponibilidade de altas doses de enxofre ($\geq$ 1,9 mmol L^{-1}) combinadas com baixas e altas doses de nitrogênio (2, 16 e 30 mmol L^{-1}) na solução nutritiva, resultaram em concentração de enxofre total no sistema radicular superior à soma da concentração de enxofre total na parte aérea nos dois cortes das plantas do capim-piatã, conforme obervado na Tabela 3.

Tabela 3 - Concentração de enxofre total (St) na parte aérea do capim piatã no primeiro (1°) e segundo (2º) cortes, na parte aérea total produzida durante nos dois cortes (1° C + 2° C) e nas raízes do capim-piatã cultivado sob combinações de doses de nitrogênio e de enxofre na solução nutritiva

Combinação de doses de N x S	St na parte aérea* (1° corte)	St na parte aérea (2° corte)	St na parte aérea (1° C + 2°C)	St nas raízes
	----------g kg^{-1}----------			
$N_2S_{0,1}$**	0,7 (0,05)±	0,8 (0,09)	1,5 (0,04)	1,8 (0,23)
$N_2S_{1,3}$	0,8 (0,06)	1,2 (0,04)	2,0 (0,07)	3,4 (0,12)
$N_2S_{2,5}$	0,9 (0,02)	1,4 (0,07)	2,3 (0,08)	4,0 (0,11)
$N_9S_{0,7}$	1,2 (0,09)	1,1 (0,04)	2,2 (0,07)	2,2 (0,12)
$N_9S_{1,9}$	1,3 (0,05)	1,6 (0,10)	2,9 (0,06)	4,5 (0,16)
$N_{16}S_{0,1}$	0,5 (0,04)	0,3 (0,04)	0,8 (0,04)	0,5 (0,01)
$N_{16}S_{1,3}$	1,4 (0,06)	1,1 (0,04)	2,5 (0,08)	2,4 (0,18)
$N_{16}S_{2,5}$	1,5 (0,06)	1,5 (0,03)	3,0 (0,07)	4,4 (0,19)
$N_{23}S_{0,7}$	1,2 (0,09)	0,6 (0,05)	1,8 (0,13)	0,7 (0,04)
$N_{23}S_{1,9}$	1,7 (0,05)	1,2 (0,10)	2,8 (0,12)	2,9 (0,15)
$N_{30}S_{0,1}$	0,5 (0,03)	0,4 (0,03)	0,9 (0,05)	0,5 (0,07)
$N_{30}S_{1,3}$	1,7 (0,08)	1,1 (0,05)	2,8 (0,13)	1,2 (0,05)
$N_{30}S_{2,5}$	1,7 (0,07)	1,5 (0,05)	3,3 (0,10)	3,6 (0,18)
Efeito do N e S	INT (NxS)	INT (NxS)	INT (NxS)	INT (NxS)

* Parte aérea = FE+LR+LM+CB;
** NxSy, onde x = dose de nitrogênio e y = dose de enxofre na solução nutritiva;
± Erro padrão da média entre parêntesis (*n* = 4).
INT (NxS), interação significativa entre a combinação de doses de nitrogênio x doses de enxofre na solução nutritiva ($P < 0,05$).

No presente estudo, altas doses de nitrogênio combinadas com altas doses de enxofre na solução nutritiva promoveram diluição na concentração de enxofre nos tecidos radiculares do capim-piatã (Figura 24), uma vez que a planta cresceu mais e produziu maior quantidade de massa seca das raízes em tal condição (Figura 9). Por sua vez, o fornecimento da mais elevada dose de enxofre combinada com o mais baixo suprimento de nitrogênio na solução nutritiva, fez com que as plantas tivessem o crescimento do sistema radicular reduzido, e consequentemente houvesse maior concentração de enxofre nesses tecidos radiculares (Figura 24). Resultado semelhante foi encontrado por Artur (2010), que verificou significância para a

interação doses de nitrogênio x doses de enxofre no capim-marandu para a concentração de enxofre nas raízes das gramíneas, onde a elevada concentração de enxofre nas raízes do capim foram encontradas em combinação de doses baixas de nitrogênio com doses altas de enxofre.

Relatos na literatura indicam que a aplicação de fertilizante nitrogenado tende a reduzir a concentração de enxofre em gramíneas forrageiras se o suprimento de enxofre é limitante (GOH; KEE, 1978), mas pode incrementar a concentração de enxofre se o suprimento de enxofre for abundante (DE BONA; MONTEIRO, 2010a), conforme observado neste estudo para a concentração de enxofre no sistema radicular das plantas de capim-piatã.

Batista e Monteiro (2006b), avaliando o fornecimento da combinação de doses de nitrogênio e enxofre para o capim-marandu, constataram efeito significativo das doses de nitrogênio na concentração de enxofre total nas raízes, sendo que elevadas doses de nitrogênio resultaram em concentrações mais baixas de enxofre total no sistema radicular da gramínea. De modo semelhante, Bonfim-da-Silva e Monteiro (2010) também encontraram efeito das doses de nitrogênio na concentração de enxofre nas raízes do capim-braquiária, onde a mínima concentração de enxofre encontrada nas raízes (1,61 g kg^{-1}) foi obtida na dose de nitrogênio próxima à que promoveu a máxima produção de massa seca das plantas. Segundo os autores, a diminuição da concentração de enxofre em função das doses de nitrogênio pode ser atribuída ao efeito de diluição, uma vez que, à medida que se aumentou a dose de nitrogênio, observou-se incremento na produção de massa seca das raízes.

4.3.6 Enxofre na forma de sulfato

A interação doses de nitrogênio x doses de enxofre não foi significativa para a concentração de enxofre-sulfato quantificada nas folhas diagnósticas do capim-piatã nos dois cortes das plantas, mas significâncias foram verificadas para as doses de nitrogênio e de enxofre isoladamente. As concentrações de enxofre-sulfato ajustaram-se ao modelo quadrático de regressão para as doses de nitrogênio em ambos os cortes e aos modelos quadrático e linear de regressão para as doses de enxofre no primeiro e segundo cortes, respectivamente (Figura 25).

As máximas concentrações de enxofre na forma de sulfato nas folhas diagnósticas do capim-piatã, sob a influencia das doses de nitrogênio foram de 376,5 e 345,8 mg kg^{-1} no primeiro e segundo cortes das plantas, respectivamente. Nos dois cortes, a máxima concentração de enxofre-sulfato foi obtida quando se forneceu dose de nitrogênio próxima a 13 mmol L^{-1} (13,8 mmol L^{-1} no primeiro e 13,2 mmol L^{-1} no segundo corte). A partir desse ponto, o aumento nas doses de nitrogênio provocou decréscimos na concentração de sulfato

das folhas amostradas. Nas mais elevadas doses de nitrogênio essa concentração atingiu valores próximos a 98 mg kg^{-1}, nos dois cortes da gramínea (Figura 25), provavelmente devido ao efeito de diluição, uma vez que as plantas tiveram maior produção de massa seca em condições de doses mais elevadas de nitrogênio. Para produzir maior quantidade de massa seca as plantas aumentaram a demanda por enxofre na forma de sulfato para a formação de aminoácidos e proteínas, o que, consequentemente, reduziu a concentração de enxofre livre na forma de sulfato nos tecidos foliares das plantas.

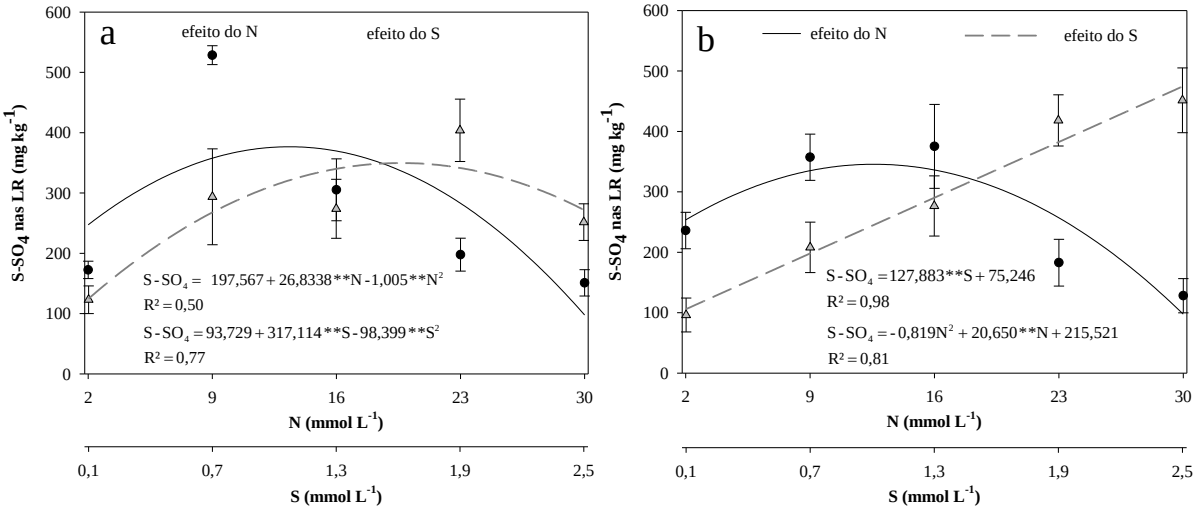


Figura 25 - Concentração de enxofre-sulfato ($S\text{-}SO_4$) nas folhas diagnósticas (LR) do capim-piatã coletadas no primeiro (a) e no segundo (b) cortes em função de doses de nitrogênio (N) e de enxofre (S) na solução nutritiva

A máxima concentração de enxofre-sulfato proporcionada pelas doses de enxofre nas folhas diagnósticas do capim-piatã no primeiro corte foi de 345,4 mg kg^{-1}, obtida na dose de enxofre de 1,62 mmol L^{-1} (Figura 25a), enquanto no segundo corte essa concentração variou de 88 a 395 mg kg^{-1} (Figura 25b). O aumento nas doses de enxofre na solução nutritiva disponibilizou maior quantidade de enxofre-sulfato para as plantas quando comparada com as mais baixas doses de enxofre, o que incrementou a concentração de enxofre-sulfato nas folhas diagnósticas do capim-piatã.

O enxofre presente na forma de sulfato nos tecidos vegetais depende do fornecimento de íons minerais e da capacidade da espécie em acumular sulfato em excesso para as necessidades metabólicas da planta (DIJKSHOORN; van WIJK, 1967). Resultados encontrados por Kouno e Ogata (1988) relataram o menor valor crítico de sulfato (60 a 160 g kg^{-1}) nas culturas do siratro (*Macroptilium atropurpureum*), sorgo (*Sorghum bicolor*), milheto africano (*Eleusine coracana*) e azevém perene (*Lolium perene*). Valores críticos de sulfato entre 230 e 260 g kg^{-1} foram encontrados para trevo branco e desmódio (*Desmodium*

intortum), enquanto valores mais elevados (450 a 880 g kg^{-1} de sulfato) foram obtidos para trevo vermelho (*Trifolium pratense*), azevém (*Lolium perene*) e festuca (*Festuca arundinacea*), sendo que o valor crítico mais alto (1.400 mg kg^{-1} de sulfato) foi encontrado para a cultura da alfafa. No referido estudo, o valor crítico de enxofre na forma de sulfato nos tecidos foliares foi calculado como sendo a concentração de sulfato necessária para atingir 60% da máxima produção das culturas, pois segundo revisão feita pelos autores, nessas condições os níveis críticos encontrados não seriam afetados pela idade da planta e suprimento de nitrogênio.

Zhao et al. (1996), estudando a resposta de duas variedades de trigo ao enxofre, concluíram que o enxofre-sulfato e o enxofre total podem ser utilizados como indicadores do estado nutricional de enxofre na parte aérea das plantas de trigo, com valores críticos (para 90% da máxima produção de massa seca) de 1500 e 190 mg kg^{-1} de massa seca, respectivamente.

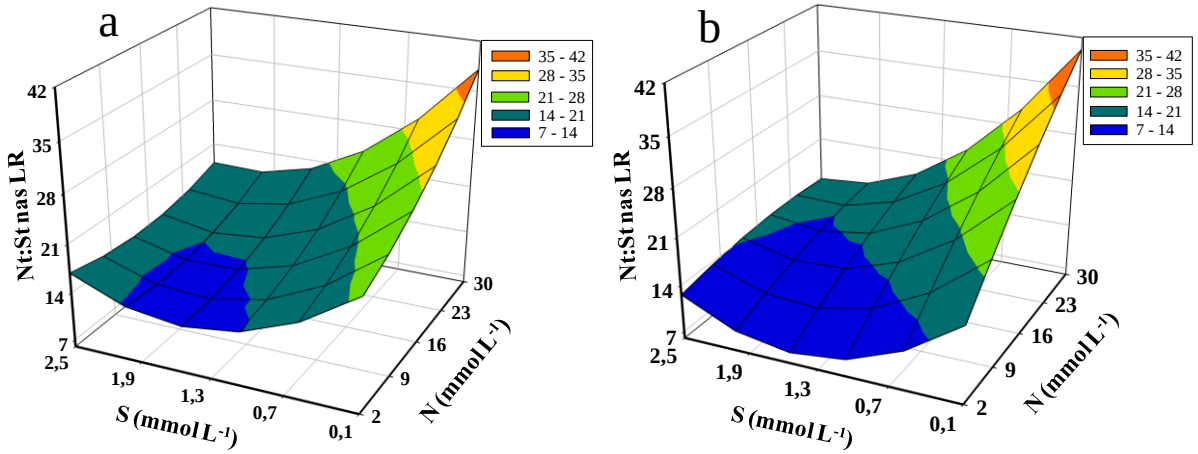
No primeiro corte do capim-piatã a concentração de enxofre-sulfato nas folhas diagnósticas correlacionou-se positivamente com a produção de massa seca da parte aérea (r = 0,68*). Porém, no segundo crescimento, esses resultados não se correlacionaram significativamente. Isso pode ter ocorrido devido ao efeito do suprimento de nitrogênio, que fez com que as plantas crescessem mais durante o segundo crescimento, produzindo maior quantidade de massa seca do que no primeiro corte, o que provavelmente diluiu o enxofre-sulfato presente nas folhas diagnósticas nas mais altas doses de nitrogênio.

4.3.7 Relação nitrogênio total:enxofre total

Na relação nitrogênio total:enxofre total (Nt:St) nas folhas diagnósticas do capim-piatã foi constatada significância para a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre, tanto no primeiro quanto no segundo corte das plantas (Figura 26). Nas folhas diagnósticas coletadas no primeiro corte, a mínima relação Nt:St foi de 12,7:1 e foi obtida na combinação da dose de nitrogênio de 4 mmol L^{-1} com a dose de enxofre de 1,6 mmol L^{-1} na solução nutritiva (Figura 26a), enquanto um ponto de cela verificado para os resultados do segundo corte não permitiu determinar o ponto de mínimo ou de máximo (Figura 26b). Observa-se que o incremento de enxofre dentro de dose fixa de nitrogênio resultou em diminuição da relação Nt:St em ambos os cortes do capim, devido ao efeito de diluição.

Na medida em que foi aumentada a dose de nitrogênio, em condições de baixo suprimento de enxofre, houve incremento na relação Nt:St, atingindo valores de 38:1 e 40:1, no primeiro e segundo corte respectivamente. Esses altos valores na relação Nt:St indicam

severa deficiência de enxofre e foram encontrados em condição de maior fornecimento de nitrogênio concomitante ao baixo suprimento de enxofre. Por outro lado, a combinação de elevadas doses de nitrogênio e de enxofre na solução nutritiva resultaram em relação Nt:St próxima a 18:1 no primeiro e 14:1 no segundo corte das plantas.



$Nt:St = 22,9816 + 0,2712N + 0,0099N^2 - 13,6704^{**}S + 4,5746^{**}S^2 - 0,2198^{**}NS$ ($R^2 = 0,78$)

$Nt:St = 16,6338 + 1,0174^{**}N - 0,0050N^2 - 14,2059^{**}S + 4,9663^{**}S^2 - 0,3179^{**}NS$ ($R^2 = 0,84$)

Figura 26 - Relação nitrogênio total:enxofre total (Nt:St) nas lâminas de folhas recém-expandidas (LR) no primeiro (a) e segundo (b) cortes do capim-piatã, em função das combinações de doses de nitrogênio (N) e enxofre (S) na solução nutritiva

A relação Nt:St tem sido comumente utilizada como índice para avaliar o estado nutricional da planta em enxofre, em complemento à diagnose realizada exclusivamente com valores absolutos das concentrações de nitrogênio total e enxofre total, que podem apresentar limitações devido ao estádio de desenvolvimento das plantas, taxa de crescimento, parte amostrada, entre outros fatores (SPENCER; FRENEY; JONES, 1984, DUKE; REISENAUER, 1986). As plantas mantêm relação relativamente constante para nitrogênio orgânico e enxofre orgânico, uma vez que necessitam de nitrogênio e de enxofre em quantidades proporcionais para a biossíntese de aminoácidos (DIJKSHOORN; LAMPE; BURGE, 1960).

De acordo com Dijkshoorn e van Wijk (1967), a relação Nt:St de 14:1 é indicadora de adequado estado nutricional desses nutrientes em gramíneas. Quando o nitrogênio está em excesso em relação ao enxofre há acumulo de compostos não proteicos (como a amida) resultando em relação Nt:St maior do que 15:1 (ABDIN et al., 2007). Para Cassel et al. (1996) a relação maior que 16:1 indica a deficiência de enxofre na formação de proteínas na cultura do milho. Werner e Monteiro (1988), revisando uma série de estudos a respeito da relação

Nt:St em plantas forrageiras, apontaram que essa relação geralmente varia de 12:01 a 17:01 em capins adequadamente supridos com nitrogênio e enxofre.

No presente estudo, a relação Nt:St nas folhas diagnósticas do capim-piatã variou de 13:1 a 38:1 e de 11:1 a 40:1 no primeiro e segundo cortes, respectivamente. Batista e Monteiro (2007) obtiveram relação Nt:St variando de 2,8:1 a 37,2:1 nas folhas diagnósticas do capim-marandu fertilizado com doses de nitrogênio e enxofre. De Bona e Monteiro (2010a), estudando combinações de doses de nitrogênio e de enxofre em capim-marandu cultivado em solo com alto teor de matéria orgânica, constataram altas relações Nt:St no tecido foliar das plantas quando não houve aplicação de enxofre e ocorreu fornecimento de elevada dose de nitrogênio. Também, Artur (2010) obteve resultados similares para o mesmo capim crescido em solo com baixo teor de matéria orgânica. Ainda que os cultivares de *Brachiaria brizantha* tenha variado nesses estudos, há grande concordância entre eles, para condições similares de fornecimento de nitrogênio e de enxofre.

As plantas de capim-piatã cultivadas com doses de nitrogênio e de enxofre que proporcionaram maior crescimento vegetativo apresentaram os valores de relação Nt:St nas folhas diagnósticas próximos a 20:1. O fornecimento da mais alta dose de nitrogênio combinada com baixas doses de enxofre proporcionou relação Nt:St duas vezes maior (até 40:1) do que a considerada ideal para a maximização do crescimento das plantas. Esses resultados confirmam as recomendações de que a adubação com enxofre deve ser recomendada quando o pasto encontra-se bem nutrido em nitrogênio (MONTEIRO et al., 1995; MONTEIRO; COLOZZA; WERNER, 2004; ARTUR, 2010).

Réussi, Echeverría e Rozas (2011), estudando o uso de vários indicadores para determinar a deficiência de enxofre em trigo, entre os quais estavam a relação Nt:St na biomassa da parte aérea e relação Nt:St nos grãos de trigo, concluíram que o indicador mais confiável para diagnosticar a deficiência de enxofre nessa cultura foi a relação Nt:St na biomassa das plantas. Contudo, Haneklaus et al. (2007) relataram que a relação Nt:St pode ser obtida com várias combinações de proporções entre a concentração de nitrogênio e de enxofre nos tecidos foliares, o que prejudica a sua utilização para diagnóstico do estado nutricional das plantas. Dessa forma, o excedente de um elemento pode, falsamente ser interpretada como deficiência do outro. Para evitar que isso ocorra o ideal é utilizar a relação Nt:St juntamente com outro método de diagnose do estado nutricional, como a concentração de enxofre total nas folhas, e realizar de modo correto o diagnóstico do estado nutricional de enxofre nas gramíneas forrageiras.

4.3.8 Relação enxofre-sulfato:enxofre total

Para os resultados da relação enxofre-sulfato:enxofre total (S-SO_4:St) não foi significativa a interação doses de nitrogênio x doses de enxofre nas folhas diagnósticas do capim-piatã avaliadas no primeiro e segundo cortes das plantas. Contudo, a relação S-SO_4:St foi influenciada pelas doses de nitrogênio no primeiro corte, e pelas doses de nitrogênio e de enxofre isoladamente no segundo corte (Figura 27).

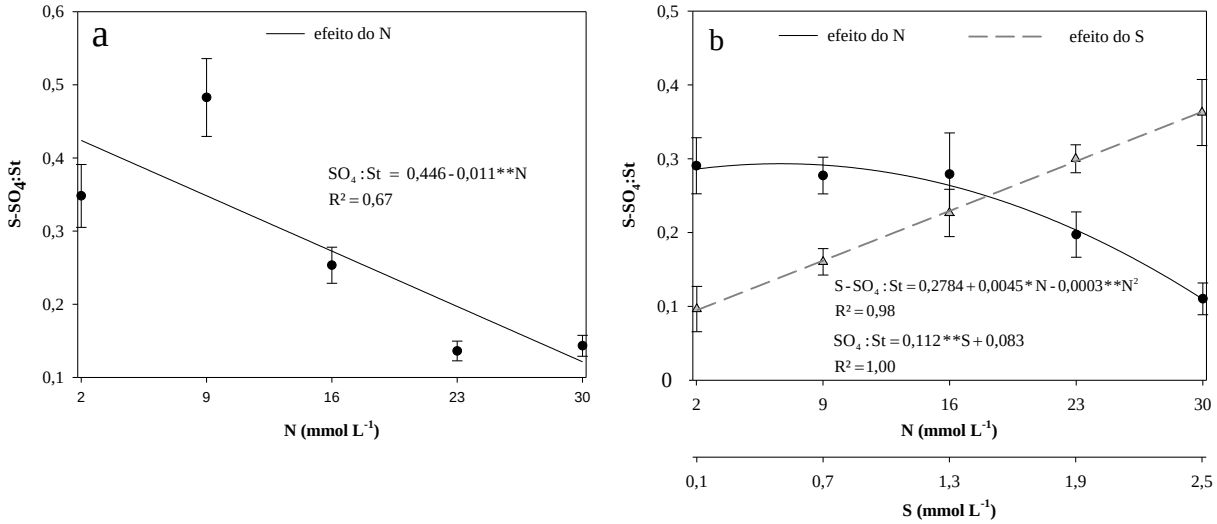


Figura 27 - Relação enxofre-sulfato:enxofre total (S-SO_4:St) nas folhas diagnósticas do capim-piatã submetido a doses de nitrogênio (N) no primeiro (a) e a doses de nitrogênio (N) e de enxofre (S) no segundo (b) corte

A relação S-SO_4:S apresentou redução com o incremento das doses de nitrogênio na solução nutritiva, nos dois cortes do capim-piatã (Figura 27). O incremento na disponibilidade de nitrogênio permitiu que as plantas crescessem mais e demandassem maior quantidade de enxofre como sulfato para formação de aminoácidos, produzindo assim maior quantidade de massa seca (Figura 8), o que diminuiu a quantidade de sulfato nas folhas diagnósticas do capim e resultou em menor relação S-SO_4:St. O aumento da concentração de enxofre no substrato resultou em incremento linear da relação S-SO_4:St no segundo corte das plantas (Figura 27 b). O mais baixo fornecimento de enxofre na solução nutritiva resultou em relação S-SO_4:S equivalente a 0,09, situação em que ocorreu deficiência de enxofre nas plantas. Por outro lado, no mais alto suprimento de enxofre a relação S-SO_4:St foi de 0,36 e ocorreu em condição de nutrição mais que adequada em enxofre.

Zhao et al. (1996) encontraram, na diagnose da deficiência de enxofre em dois cultivares de trigo, como nível crítico de S-SO_4:St o valor de 0,17, enquanto na maturidade das plantas o valor crítico foi de 0,25. Apesar de ser significativa a correlação da relação S-SO_4:St com a produção de massa seca da parte aérea dos cultivares de trigo, os autores

destacaram que não parece ser vantajosa a utilização da relação S-SO_4:St ao invés do uso exclusivo da concentração de enxofre total ou de enxofre na forma de sulfato.

Freney, Spencer e Jones (1978), analisando indicadores da deficiência de enxofre na cultura do trigo, concluíram que a relação enxofre-sulfato:enxofre total foi o índice mais promissor para avaliação da diagnose nutricional do enxofre nessas plantas, uma vez que encontraram forte correlação entre a relação SO_4:St e a produção relativa de massa seca das plantas, independente do período de crescimento e das doses de nitrogênio. Os autores ainda indicaram que plantas de trigo com mais de 10% de enxofre na forma de sulfato (o que significa S-SO_4:St = 0,10) estariam adequadamente supridas em enxofre.

Scaife e Burns (1986), avaliando estudos com a utilização da relação S-SO_4:St para diagnóstico do estado nutricional do enxofre em algumas culturas (incluindo gramíneas forrageiras) indicaram como desvantagem a utilização da relação S-SO_4:S por dois motivos: (1) tanto o enxofre-sulfato quanto o enxofre total são incrementados com a elevação no suprimento de enxofre e, dividindo-se um pelo outro, possivelmente o índice resultante será menos sensível do que cada um isolado e (2) a determinação dessa relação envolve o dobro do trabalho analítico comparado com as determinações exclusivas do enxofre-sulfato ou do enxofre-total

A relação S-SO_4:St não apresentou correlação significativa com a produção de massa seca da parte área em ambos os cortes do capim-piatã. Em condições de baixa dose de nitrogênio (2 mmol L^{-1}) a relação S-SO_4:St variou de 0,31 a 0,39 e de 0,25 a 0,33 no primeiro e segundo cortes, respectivamente, e a produção de massa seca da parte aérea nessa condição foi inferior a 20% da máxima produção de massa seca da parte área do capim-piatã. Por outro lado, em condição de alta dose de nitrogênio (30 mmol L^{-1}) a relação SO_4:St variou de 0,13 a 0,15 e de 0,09 a 0,13 no primeiro e segundo cortes, respectivamente. Nessa condição a relação S-SO_4:St associou-se com 30 a 100% da produção de massa seca da parte aérea das plantas. Dessa forma, a relação S-SO_4:St determinada nas folhas diagnósticas do capim-piatã durante a fase de implantação e na rebrotação (primeiro e segundo cortes, respectivamente) não deve ser utilizada como único método para avaliação do estado nutricional das plantas de capim-piatã.

5 CONCLUSÕES

A combinação de doses elevadas de nitrogênio juntamente com doses elevadas de enxofre promovem a maximização dos parâmetros morfogênicos, produtivos e nutricionais das plantas de capim-piatã.

O maior potencial produtivo das plantas do capim-piatã, traduzidos pelo maior número de folhas e de perfilhos, maior área foliar e maior produção de massa seca da parte aérea e das raízes ocorre na combinação de elevadas doses de nitrogênio e de enxofre na solução nutritiva. As exigências se mostram maiores no segundo corte das plantas, sendo que alguns desses parâmetros apresentam demanda por nitrogênio e/ou por enxofre acima das doses máximas testadas.

É necessário elevar as doses de nitrogênio e de enxofre na solução nutritiva de Hoagland e Arnon para experimentos com gramíneas forrageiras para aproximadamente 30 mmol L^{-1} e 3 mmol L^{-1}, respectivamente, a fim de garantir que as plantas de capim-piatã expressem seu máximo potencial produtivo.

O sistema radicular das plantas do capim-piatã demanda altas doses de nitrogênio e de enxofre na solução nutritiva para maximizar o comprimento e a superfície radiculares totais.

Doses elevadas de nitrogênio diminuem o comprimento radicular específico e a relação enxofre-sulfato:enxofre total nas folhas diagnósticas do capim, além de aumentar a atividade da enzima redutase do nitrato e a concentração de amônio nesses tecidos.

A dose de enxofre de aproximadamente 1,3 mmol L^{-1} proporciona os maiores comprimento e superfície radiculares específicos, enquanto a dose mais alta de enxofre (2,5 mmol L^{-1}) maximiza a concentração de enxofre-sulfato e a relação enxofre-sulfato:enxofre total nas folhas diagnósticas do capim-piatã.

A concentração de nitrogênio nas folhas diagnósticas do capim-piatã, bem como o valor SPAD, servem como bons parâmetros para a avaliação do estado nutricional das plantas em relação ao nitrogênio, enquanto que, para a avaliação do estado nutricional do enxofre nas folhas diagnósticas do capim-piatã, a concentração de enxofre total e a relação Nt:St devem ser tomadas em conjunto.

REFERÊNCIAS

ABDIN, M.Z.; DWIWEDI, R.K.; SINGH, B.; ABROL, Y.P. Nitrogen in agricultural ecosystem. In: TANDON, P.; ABROL, Y.P.; KUMARIA, S. (Ed.). **Biodiversity and its significance**. New Delhi: International Publishing House, 2007. chap. 1, p. 1-38.

ABREU, J.B.R. **Níveis de nitrogênio e proporções de nitrato e amônio afetando a produção, atividade da redutase do nitrato e composição de três gramíneas forrageiras.** 1994. 109p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.

ABREU, J.B.R.; MONTEIRO, F.A. Produção e nutrição do capim–marandu em função de adubação nitrogenada e estádios de crescimento. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 56, p. 137-146, 1999.

ALEXANDRINO, E.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; REGAZZI, A.J.; MOSQUIM, P.R.; ROCHA, F.C.; SOUZA, D.P. Características morfogênicas e estruturais da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu submetida a diferentes doses de nitrogênio e frequências de cortes. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 27, p. 7-14, 2005.

ALZUETA, I.; ABELEDO, L.G.; MIGNONE, C.M.; MIRALLES, D.J. Differences between wheat and barley in leaf and tillering coordination under contrasting nitrogen and sulfur conditions. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 41, p. 92-102, 2012.

ANDRADE, R.P. Pasture seed production technology in Brazil. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 19., 2001. São Pedro. **Proceedings…** Piracicaba:FEALQ, 2001. p. 129-132.

ANSLOW, R.C. The rate of appearance of leaves on tillers of the gramineae. **Herbage Abstract**, Wallington, v. 36, p. 149-155, 1966.

ANUALPEC 2012: **Anuário da pecuária brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2012. 378p.

ARAÚJO, S.A.C.; DEMINICIS, B.B.; CAMPOS, P.R.S.S. Melhoramento genético de plantas forrageiras tropicais no Brasil. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 57, p. 61-76, 2008.

ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F.; BORTOLINI, C.G. Teor de clorofila na folha como indicador do nível de N em cereais. **Ciência Rura**l, Santa Maria, v. 31, p. 715-722, 2001.

ARTUR, A.G. **Adubações com nitrogênio e enxofre: frações no solo, características estruturais, nutricionais, produtivas e uso da água pelo capim-marandu.** 2010. 115p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE. **Mercado mundial de carne bovina.** Disponível em: http://www.abiec.com.br/download/stat_mercadomundial.pdf. Acesso em: 08 ago. 2012.

BATAGLIA, O.C. Análise química de plantas. In: FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P. (Ed.) **Micronutrientes na agricultura**. Piracicaba: Associação Brasileira para a Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1995. cap. 6, p. 289-308.

BATISTA, K. **Respostas do capim-marandu a combinações de doses de nitrogênio e enxofre**. 2002. 91p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

BATISTA, K.; MONTEIRO, F.A. Respostas morfológicas e produtivas do capim-marandu adubado com doses combinadas de nitrogênio e enxofre. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, p. 1281-1288, 2006a.

_____. Sistema radicular do capim-marandu considerando as combinações de doses de nitrogênio e de enxofre**. Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, p. 821-828, 2006b.

_____. Nitrogen and sulphur in marandu grass: relationship between supply and concentration in leaf tissues. **Scientia Agricola**. Piracicaba, v. 64, p. 44-51, 2007.

_____. Nitrogênio e enxofre nas características morfogênicas do capim-marandu em substituição ao capim-braquiária em degradação em solo com baixo teor de matéria orgânica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, p. 1151-1160, 2008.

BERTON, C.T. **Efeito de diferentes tempos de repouso sobre a parte aérea, sistema radicular e comportamento de pastoreio de vacas leiteiras em uma pastagem polifítica.** 2010. 94p. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

BILBROUGH, C.J.; CALDWELL, M.M.; The effects of shading and N status on root proliferation in nutrient patches by the perennial grass *Agropyron desertorum* in the field. **Oecologia**, New York, v. 103, p. 10-16, 1995.

BLACKMER, T.M.; SCHEPERS, J.S. Use of chlorophyll meter to monitor nitrogen status and schedule fertigation for corn. **Journal of Production Agriculture**, Madison, v. 8, p.56-60, 1995.

BONFIM-DA-SILVA, E.M. **Nitrogênio e enxofre na recuperação de capim Braquiária em degradação em Neossolo Quartzarênico com expressiva matéria orgânica**. 2005. 123p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

BONFIM-DA-SILVA, E.M.; MONTEIRO, F.A. Nitrogênio e enxofre na adubação e em folhas diagnósticas e raízes do capim-braquiária em degradação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, p. 1641-1649, 2010.

BONFIM-DA-SILVA, E.M.; MONTEIRO, F.A.; SILVA, T.J.A. Nitrogênio e enxofre na produção e no uso de água pelo capim-braquiária em degradação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 309-317, 2007.

BOOT, R.G.A.; MENSINK, M. Size and morphology of root systems of perennial grasses from contrasting habitats as affected by nitrogen supply. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 129, p. 291-299, 1990.

BREDEMEIER, C. **Predição da necessidade de nitrogênio em cobertura em trigo e aveia.** 1999. 101 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.

BROUGHAM, R.W. Effects on intensity of defoliation on regrowth of pasture**. Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v.7, p. 377-387, 1956.

BROWER, R. Nutritive influences on the distribution of dry matter in the plant. **Journal of Agricultural Science**, Wageningen, v. 10, p. 342-399, 1962.

BROWN, L.; SCHOLEFIELD, D.; JEWKES, E.C.; PREEDY, N.; WADGE, K.; BUTLER, M. The effect of sulphur application on the efficiency of nitrogen use in two contrasting grassland soils. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 135, p. 131-138, 2000.

BULLOCK, D.G.; ANDERSON, D.S. Evaluation of the Minolta SPAD-502 chlorophyll meter for nitrogen management in corn. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 21, p. 741-755, 1998.

CARNEVALLI, R.A.; Da SILVA, S.C. Validação de técnicas experimentais para avaliação de características agronômicas e ecológicas de pastagens de *Cynodon dactylon* cv. 'Coast-Cross-1'. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, p. 489-499, 1999.

CARVALHO, M.M.; MARTINS, C.E.; VERNEQUE, R.S. Respostas de uma espécie de *Brachiaria* à fertilização com nitrogênio e potássio em um solo ácido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 15, p. 195-200, 1991.

CARVALHO, T.B.; ZEN, S.; TAVARES, E.C.N. Comparação de custo de produção na atividade de pecuária de engorda nos principais países produtores de carne bovina. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 47., 2009, Porto Alegre. **Anais.**.. Porto Alegre: SOBER. 2009.

CASSEL, D.K.; KAMPRATH, E.J.; SIMMONS, F.W. Nitrogen-sulfur relationship in corn as affected by landscape attributes and tillage. **Agronomy Journal**, Madison, v. 88, p. 133-140, 1996.

CAZETTA, J.O.; VILLELA, L.C.V. Nitrate reductase activity in leaves and stems of tanner grass (*Brachiaria radicans* Napper), **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 61, p. 640-648, 2004.

CHAPMAN, S.C.; BARRETO, H.J. Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. **Agronomy Journal**, Madison, v. 89, p. 557-562, 1997.

CHAPMAN, D.F.; LEMAIRE, G. Morphogenetic and structural determinants of plant regrowth after defoliation. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 17., 1993, Australia. **Proceedings...** Austrália: s.ed., 1993. p. 95-104.

COLOZZA, M.T. **Rendimento e diagnose foliar dos capins Aruana e Mombaça cultivados em Latossolo Vermelho– Amarelo adubado com doses de nitrogênio**. 1998. 127p. Tese (Doutorado em Solos Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

COLOZZA, M.T.; KIEHL, J.C.; WERNER, J.C.; SCHAMMASS, E.A. Respostas de *Panicum maximum* cv. Aruana a doses de nitrogênio. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 57, p. 21-32, 2000.

CONSOLMAGNO NETO, D.; MONTEIRO, F.A.; DECHEN, A.R. Características produtivas do capim-tanzânia cultivado com combinações de potássio e de magnésio. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 29, p. 459-467, 2007.

CORRÊA, B.D. **Doses de nitrogênio e de magnésio afetando aspectos produtivos e bioquímicos dos capins Colonião, Tanzânia 1 e Vencedor.** 1996. 76p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996.

CORSI, M. **Effects of nitrogen rates and harvesting intervals on dry matter production, tillering and quality of the tropical grass *Panicum maximum* Jacq.** 1984. 125p. Thesis (Doctor of Physiology) – The Ohio State University, Ames, 1984.

CORSI, M.; GOULART, R.C.D.; ANDREUCCI, M.P. Nitrogênio e enxofre em pastagens. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S.R.S.; VITTI, C.G. **Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira**. Piracicaba: INPI Brasil, 2007. cap. 7, p. 251-275.

COSTA, K.A.P; ARAUJO, J.L.; FAQUIN, V.; OLIVEIRA, I.P.; FIGUEIREDO, F.C.; GOMESI, K.W. Extração de macronutrientes pela fitomassa do capim-xaraés em função de doses de nitrogênio e potássio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, p. 1162-1166, 2008.

CRAWFORD, N.M. Nitrate: nutrient and signal for plant growth. **The Plant Cell**, Rockville, v.7, p. 859-868, 1995.

CRAWFORD, N.M.; KAHN, M.L.; LEUSTEK, T.; LONG, S.R. Nitrogen and sulphur. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (Ed.). **Biochemistry and molecular biology of plants.** Rockville: American Society of Plant Physiologist, 2000. chap. 16, p. 786-849.

CRESTANA, S.; GUIMARÃES, M.F.; JORGE, L.A.C.; RALISCH, R.; TOZZI, C.L.; TORRE, A.; VAZ, C.M.P. Avaliação da distribuição de raízes no solo auxiliada por processamento de imagens digitais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo,** Campinas, v. 18, p. 365-371, 1994.

CRUZ, J.L. **Efeitos de níveis de nitrato sobre o metabolismo do nitrogênio, assimilação do CO_2 e fluorescência da clorofila *a* em mandioca.** 2001. 87p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) — Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

CRUZ, P.; BOVAL, M. Effect of nitrogen on some morphogenetic traits of temperature and tropical perennial forages grasses. In: LEMAIRE, G.; HODGSON, J.; De MORAES, A.; NABINGER, C.; CARVALHO, P.C.F. (Ed.). **Grassland ecophysiology and grazing ecology**. Curitiba: CABI Publishing, 1999. chap.8, p. 151-168.

DEBAEKE, P.; ROUET, P.; JUSTES, E. Relationship between the normalized SPAD index and the nitrogen nutrition index: application to durum wheat. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 29, p. 75-92, 2006.

DE BONA, F.D.; MONTEIRO, F.A. Marandu palisadegrass growth under nitrogen and sulphur for replacing Signal Grass in degraded tropical pasture. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 67, p. 570-578, 2010a.

_____. The development and production of leaves and tillers by Marandu palisadegrass fertilized with nitrogen and sulphur. **Tropical Grasslands**, Saint Lucia, v. 44, p. 192-201, 2010b.

DE BONA, F.D.; FEDOSEYENKO, D.; VON WIRÉN, N.; MONTEIRO, F.A. Nitrogen utilization by sulfur-deficient barley plants depends on the nitrogen form. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 74, p. 237-244, 2011.

DECHEN, A.R.; NAVA, G.; BATAGLIA, O.C. Métodos de avaliação do estado nutricional de plantas para o nitrogênio e o enxofre. In:YAMADA, T.; ADBALLA, S.R.S.; VITTI, G.C. **Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira**. Piracicaba: INPI Brasil, 2007, cap. 7, p. 251-275.

DIJKSHOORN, W.; LAMPE, J.E.M.; van BURGE, P.F.J. A method of diagnosis the sulphur nutrition status of herbage. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 13, p. 227-241, 1960.

DIJKSHOORN, W.; van WIJK, A.L. The sulphur requirements of plants as evidenced by the sulphur-nitrogen ratio in the organic matter: A review of published data. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 26, p. 129-157, 1967.

DOURADO, R.L.; SOUZA, A.L.; SEGATTO, C.E.; SILVA, D.R.G.; SANTOS, J.N.; BONELLI, E.A. **Características agronômicas da *Brachiaria brizantha* cv. Piatã submetida a doses de nitrogênio**, 2009. Disponível em: <http://www.abz.org.br/publicacoes-tecnicas/anais-zootec/artigos-cientificos/forragicultura-pastagens/21494-Caractersticas-agronmicas-Brachiaria-brizantha-Piat-submetida-doses-nitrognio1.html> Acesso: 01 ago. 2012.

DOUST, A.N. Grass architecture: genetic and environmental control of branching**. Current Opinion in Plant Biology**, St. Louis, v. 10, p. 21-25, 2007.

DUKE, S.H.; REISENAUER, H.M. Roles and requirements of sulfur in plant nutrition. In: TABATABAI, M.A. (Ed.). **Sulfur in agriculture**. Madison: ASA; CSSA; SSSA, 1986. p.123-168.

DUPAS, E. **Nitrogênio, potássio e boro: aspectos produtivos, morfológicos, nutricionais e frações fibrosas e proteicas do capim-tanzânia**. 2012. 90p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

EGHBALL, B.; MARANVILLE, J.W. Root development and nitrogen influx of corn genotypes grown under combined drought and nitrogen status. **Agronomy Journal**, Madison, v. 85, p. 147-152, 1993.

EISSENSTAT, D.M. Cost and benefits of constructing roots of small diameter. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 15, p. 763-782, 1992.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Piatã: cultivar de *Brachiaria brizantha***. Disponível em: www.cnpgc.embrapa.br/produtoseservicos/pdf/piata.pdf. Acesso em: 06 nov. 2012.

ERICSSON, T. Growth and shoot: root ratio of seedlings in relation to nutrient availability. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 168-169, p. 205-214, 1995.

EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; VALLE, C.B.; BARBOSA, R.A.; GONÇALVES, W.V. Produção de forragem e características da estrutura do dossel de cultivares de *Brachiaria brizantha* sob pastejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v. 43, p. 1805-1812, 2008.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Nutrição mineral de plantas**: princípios e perspectivas. Londrina: Editora Planta, 2005. 403p.

FAGERIA, N.K. **The use of nutrients in crop plant.** Boca Raton: CRC Press, 2009. 448p.

FALCÃO, R.; VALLE, C.B.; ARAUJO, A.G.C. **Característica floral atípica em *Brachiaria brizantha* (*Poaceae*).** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. 5 p. (Comunicado Técnico, 82).

FERNANDES, M.S.; ROOSSIELLO, R.O.P. Mineral nitrogen in plant physiology and plant nutrition. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 14, p. 835-841, 1998.

FERRAZ, F.M. Uma visão do futuro: a pecuária daqui a 10 anos. In: FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. **Anualpec 2008**: anuário da pecuária brasileira. 2008. p. 22-32.

FERRAZ, J.B.S.; FELÍCIO, P.E.D. Production systems - An example from Brazil. **Meat Science**, Campaign, v. 84, p. 238-243, 2010.

FISCHER, R.A.; HOWE, G.N.; IBRAHIM, Z. Irrigated spring wheat and timing and amount of nitrogen fertilizer. I. Grain yield and protein content. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 33, p. 37-56, 1993.

FITTER, A. Characteristics and functions of root systems. In: WAISEL, Y.; ESHEL, A.; KAFKAFI, U. (Ed.) **Plant roots:** the hidden half. New York: Marcel Dekker, 1996. chap. 1, p. 1 - 20.

FRENEY, J.R.; SPENCER, K.; JONES, M.B. The diagnosis of sulphur deficiency in wheat. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 29, p. 727-738, 1978.

FRIEDRICH, J.W.; SCHRADER, L.E. Sulfur deprivation and nitrogen metabolism in maize seedlings. **Plant Physiology**, Baltimore, v. 61, p. 900-903, 1978.

GARCEZ NETO, A.F.; NASCIMENTO JUNIOR, D.N.; REGAZZI, A.J.; FONSECA, D.M.; MOSQUIM, P.R.; GOBBI, K.F. Respostas morfogênicas e estruturais de *Panicum maximum* cv. Mombança sob diferentes níveis de adubação nitrogenada e alturas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, p. 1890-1900, 2002.

GILBERT, S.M.; CLARKSON, D.T.; CAMBRIDGE, M.; LAMBERS, H.; HAWKESFORD, M.J. SO_4^{2-} deprivation has an early effect on the content of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxigenase and phothosynthesis in young leaves of wheat. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 115, p. 1231-1239, 1997.

GIORDANO, M.; PEZZONI, V.; HELL, R. Strategies for the allocation of the resources under sulfur limitation in the green alga *Dunaliella salina*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 124, p. 857-864, 2000.

GOH, K.M.; KEE, K.K. Effects of nitrogen and sulphur fertilization on the digestibility and chemical composition of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 50, p. 161-171, 1978.

GUIDI, L.; LOREFICE, G.; PARDOSSI, A.; MALORGIO, F.; TOGNONI, F.; SOLDATINI, G.F. Growth and photosynthesis of *Lycopersicum esculentum* (L.) plants as affected by nitrogen deficiency. **Biologia Plantarum**, Prague, v. 40, p. 235-244, 1998.

HANEKLAUS, S.; BLOEM, E.; SCHNUG, E.; KOK, L.J.; STULEN, I. Sulfur. In: BARKER, A.V.; PILBEAM, D.J. (Ed.). **Handbook of Plant Nutrition**. Boca Raton: CRC-Press, 2007. chap. 7, p.183-238.

HILL, J.O.; SIMPSON, R.J.; MOORE, A.D.; CHAPMAN, D.F. Morphology and response of roots of pasture species to phosphorus and nitrogen nutrition. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 286, p. 7-19, 2006.

HOAGLAND, D.; ARNON, D.I. **The water culture method for growing plants without soil**. California Agriculture Experimental Station, 1950. 347p. (Circular, 347).

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo agropecuário** 2006. Rio de Janeiro, 2006. 146p.

JOHNSON, C.M.; NISHITA, H. Microestimation of sulfur in plant materials, soils, and irrigation waters. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 24, p. 736–742, 1952.

KALMBACHER, R.S.; EZENWA, I.V.; ARTHINGTON, J.D.; MARTIN, F.G. Sulfur fertilization of Bahiagrass with varying levels of nitrogen fertilization on a Florida Spodosol. **Agronomy Journal**, Madison, v. 97, p. 661-667, 2005.

KERR, P.S.; ISRAEL, D.W.; HUBER, S.C.; RUFTY, JUNIOR. T.W. Effects of supplemental NO_3^- on plant growth and components of photosynthetic carbon metabolism in soybean (*Glycine max*). **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 64, p. 2020-2027, 1986.

KELLER-GREIN, G.; MAASS, B.L.; HANSON, J. Natural variation in *Brachiaria* and existing germplasm collections. In: MILES, J.W.; MAASS, B.L.; VALLE, C.B. do; KUMBLE, V. (Ed.). ***Brachiaria***: biology, agronomy, and improvement. CIAT: Cali; Campo Grande: Embrapa, CNPGC, 1996. p. 16–42.

KLIEMANN, H.J.; MALAVOLTA, E. Disponibilidade de enxofre em solos brasileiros. V. Avaliação do estado nutricional de enxofre em plantas. **Anais da Escola de Agronomia e Veterinária**, Goiânia, v. 24, p. 17-35, 1994.

KOPRIVA, S.; RENNENBERG, H. Control of sulphate assimilation and glutathione synthesis: interaction with N and C metabolism. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, p. 1831-1842, 2004.

KOUNO, K.; OGATA, S. Sulfur-supplying capacity of soils and critical sulfur value of forage crops. **Soil Science and Plant Nutrition**, Oxford, v. 34, p. 327-339, 1988.

LANGE, J.L. **Suprimento combinado de fósforo e magnésio para a produção e nutrição do capim-tanzânia.** 2007. 79p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

LANGER, R.H.M. **How grasses grow**. London: Edward Arnold, 1974. 66p.

LAVRES JUNIOR, J.; FERRAGINE, M.D.C.; GERDES, L.; RAPOSO, R.W.C.; COSTA, M.N.X.; MONTEIRO, F.A. Yield components and morphogenesis of Aruana grass in response to nitrogen supply. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 61, p. 632-639, 2004.

LAVRES JUNIOR, J.; MONTEIRO, F.A. Perfilhamento, área foliar e sistema radicular do capim-mombaça submetido a combinações de doses de nitrogênio e potássio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, p. 1068-1075, 2003.

_____. Diagnose nutricional de nitrogênio no capim-aruana em condições controladas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, p. 829-837, 2006.

LEWANDOWSKA, M.; SIRKO, A. Recent advances in understanding plant response to sulfur-deficiency stress. **Acta Biochimica Polonica**, Varsóvia, v. 55, p. 457-471, 2008.

LITTELL, R.C.; MOTT, G.O. Computer assisted design and analysis of response surface experiments in agronomy. **Soil and Crop Society of Florida Proceedings**, Ona, v. 34, p. 94-97, 1975.

LUNDE, C.; ZYGADLO, A.; SIMONSEN, H.T.; NIELSEN, P.L; BLENNOW, A.; HALDRUP, A. Sulfur starvation in rice: the effect on phothosynthesis, carbohydrate metabolism, and oxidative stress protective pathways. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 143, p. 508-521, 2008.

MACEDO, M.C.M. Pastagem no ecossistema Cerrados: evolução das pesquisas para o desenvolvimento sustentável. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia, **Anais...** Goiânia: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2005, p. 36-84.

MACHADO, L.C.P. **Pastoreio racional voisin**: tecnologia agroecológica para o terceiro milênio. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2004. 310p.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 638p.

MANARIN, C.A. **Respostas fisiológicas, bioquímicas e produtivas do capim-mombaça a doses de nitrogênio**. 2000. 58p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

MARQUES, J.J.G.S.M.; CURI, N.; FAQUIN, V.; TEXEIRA, W.G.; EVANGELISTA, A.R.; SANTOS, D.; CARVALHO, M.M. Limitações nutricionais para gramíneas forrageiras em Cambissolo álico da microrregião Campos da Mantiqueira-MG, Brasil: 1. Produção de matéria seca e perfilhamento. **Pasturas Tropicales**, Cali, v. 17, p. 12-16, 1995.

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

MARTIN, W.E.; MATOCHA, J.E. Plant analysis as an AID in the fertilization of forage crops, In: WALSH, L.M.; BEATON, J.D. (Ed.). **Soil testing and plant analysis**. Madison: Soil Science Society of America, 1973. chap. 24, p. 393-426.

MARTUSCELLO, J.A.; FONSECA, D.M.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; SANTOS, P.M.; RIBEIRO JUNIOR, J.I.; CUNHA, D.N.F.V.; MOREIRA, L.M. Características morfogênicas e estruturais do capim-xaraés submetido à adubação nitrogenada e desfolhação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, p. 1475-1482, 2005.

MARTUSCELLO, J.A.; FONSECA, D.M.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; SANTOS, P.M.; CUNHA, D.N.F.V.; MOREIRA, L.M. Características morfogênicas e estruturais de capim-massai submetidos a adubação nitrogenada e desfolhação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, p. 665-671, 2006.

MATHOT, M.; MERTENS, J.; VERLINDEN, G.; LAMBERT, R. Positive effects of sulphur fertilisation on grasslands yields and quality in Belgium. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 28, p. 655-658, 2008.

MATHOT, M.; THÉLIER-HUCHÉ, L.; LAMBERT, R. Sulphur and nitrogen content as sulphur deficiency indicator for grasses. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 30, p. 172-176, 2009.

MATTOS, W.T.; MONTEIRO, F.A. Produção e nutrição de capim-braquiária em função de doses de nitrogênio e enxofre. **Boletim de Indústria animal**, Nova Odessa, v. 60, p. 1-10, 2003.

MATTOS, W.T.; SANTOS, A.R.; ALMEIDA, A.A.S.; CARREIRO, B.D.C.; MONTEIRO, F.A. Aspectos produtivos e diagnose nutricional do capim-tanzânia submetido a doses de potássio. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 14, p. 37-44, 2002.

MAYNARD, L.A.; LOOSLI, J.K.; HINTZ, H.F.; WAGNER, R.G. The proteins and their metabolism. In: _____ **Animal nutrition**. 7th ed. New York: McGraw-Hill, 1979. chap. 8, p. 136-185.

McKENZIE, F.R.; JACOBS, J.L.; KEARNEY, G. The long-term impact of nitrogen fertilizer on perennial ryegrass tiller and white clover growing point densities in grazed dairy pastures in south-western Victoria. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v. 53, p. 1203-1209, 2002.

MEGDA, M.M. **Suprimento de nitrogênio e de potássio e características morfogênicas, nutricionais e produtivas do capim-marandu**. 2009. 85p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

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

MIGGE, A.; BORK, C.; HELL, R.; BECKER, T.W. Negative regulation of nitrate reductase gene expression by glutamine or asparagines accumulating in leaves of sulfur-deprived tobacco. **Planta**, New York, v. 211, p. 587-595, 2000.

MINOLTA CAMERA. **Manual for chlorophyll meter SPAD-502.** Osaka: 1989. 22p.

MONTEIRO, F.A.; CARRIEL, J.M. Aplicação de níveis de enxofre na forma de gesso para o cultivo do capim–colonião em dois solos arenosos do Estado de São Paulo. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 44, p. 335-347, 1987.

MONTEIRO, F.A.; ONO, M.N. Níveis de enxofre em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu cultivada em solução nutritiva. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO. **Resumos...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1995. p. 1021-1022.

MONTEIRO, F.A.; COLOZZA, M.T.; WERNER, J.C. Enxofre e micronutrientes em pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS, 21., 2004, Piracicaba. **Anais**... Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários "Luiz de Queiroz", 2004. p. 279-301.

MONTEIRO, F.A.; RAMOS, A.K.B.; CARVALHO, D.D.; ABREU, J.B.R.; DAIUB, J.A.S.; SILVA, J.E.P.; NATALE, W. Cultivo de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em solução nutritiva com de macronutrientes. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 52, p. 135-141, 1995.

MULDER, E.G.; BOXMA, R.; VAN VENN, W.L. The effect of molybdenum and nitrogen deficiencies on nitrate reduction in plant tissue. **Plant and Soil,** Dordrecht, v. 10, p. 335-355, 1959.

MURPHY, M.D.; BOGGAN, J.M. Sulphur deficiency in herbage in Ireland 1. Causes and extent. **Irish Journal of Agricultural Research**, Dublin, v. 27, p. 83-90, 1988.

MURPHY, M.D.; COULTER, B.S.; NOONAN, D.G.; CONNOLLY, J. The effect of sulphur fertilisation on grass growth and animal performance. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, Dublin, v. 41, p. 1-15, 2002.

NABINGER, C. Princípios da exploração intensiva de pastagens. In: PEIXOTO, A.M.; MOURA, J.C.; FARIA, V.P. (Ed). **Produção de bovinos a pasto**. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários "Luiz de Queiroz", 1996. p. 15-95.

_____. Manejo da desfolha. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 18., 2001, Piracicaba, **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários "Luiz de Queiroz", 2001, p. 231-251.

NABINGER, C.; MEDEIROS, R.B. Produção de sementes de *Panicum maximum* Jacq. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 14., 1995, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários "Luiz de Queiroz", 1995. p. 59-128.

NAMBIAR, P.T.C.; REGO, T.J.; RAO, B.S. Nitrate concentration and nitrate reductase activity in the leaves of three legumes and three cereals. **Annals of Apllied Biology**, Cambridge, v. 112, p. 547-553, 1988.

NIKIFOROVA, V.J.; BIELECKA, M.; GAKIÈRE, B.; KRUEGER, S.; RINDER, J.; KEMPA, S.; MORCUENDE, R.; SCHEIBLE, W.R.; HESSE, H.; HOEFGEN, R. Effect of sulfur availability on the integrity of amino acid biosynthesis in plants, **Amino Acids**, New York, v. 30, p. 173-183, 2006.

OLIVEIRA, A.B.; PIRES, A.J.V.; MATOS NETO, U.; CARVALHO, G.G.P.; VELOSO, C.M.; SILVA, F.F. Morfogênese do capim-tanzânia submetido a adubações e intensidades de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, p. 1006-1013, 2007.

ONGARO, V.; LEYSER, O. Hormonal control of shoot branching. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 59, p. 67-74, 2007.

PEDREIRA, C.G.S.; MELLO, A.C.L.; OTANI, L. O processo de produção de forragem em pastagens. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001. p. 772-807.

PHILLIPS, J.M.; SABBE, W.E. Effects of sulfur on nitrogen recovery in Coastal bermudagrass as influenced by sulfur fertilization. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 25, p. 1763-1769, 1993.

PENG, S.; GARCÍA, F.V.; LAZA, R.C.; CASSMAN, K.G. Adjustment for specific leaf weight improves chlorophyll meter's estimate of rice leaf nitrogen concentration. **Agronomy Journal**, Madison, v. 85, p. 987-990, 1993.

PEREIRA, W.L.M. **Doses de potássio e de magnésio em solução nutritiva para o capim-mombaça.** 2001. 128p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

PEREIRA, J.M.; REZENDE, C.P.; RUIZ, M.A.M. Pastagem no ecossistema mata atlântica: atualidades e perspectivas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2005, Recife. **Anais...** SBZ. Recife: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2005. p. 36-51.

PINTO, J.C.; GOMIDE, J.A.; MAESTRI, M. Crescimento de folhas de gramíneas forrageiras tropicais, cultivadas em vasos, com duas doses de nitrogênio**. Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, v. 23, p. 327-332, 1994.

PREMAZZI, L.M.; MONTEIRO, F.A.; CORRENTE, J.E. Tillering of Tifton 85 Bermudagrass in response to nitrogen rates and time of application after cutting. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, p. 565-571, 2003.

PRIMAVESI, A.C.; PRIMAVESI, O.; CORRÊA, L.A.; CANTARELLA, H.; SILVA, A.G. Absorção de cátions e ânions pelo capim-coastcross adubado com uréia e nitrato de amônio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, p. 247-253, 2005.

PROSSER, I.A.; PURVES, J.V.; SAKER, L.R.; CLARKSON, D.T. Rapid disruption of nitrogen metabolism and nitrate transport in spinach plants deprived of sulphate. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, p. 113-121, 2001.

REEVES, D.W.; MASK, P.L.; WOOD, C.W.; DELANEY, D.P. Determination of wheat nitrogen status with a hand-held chlorophyll meter: influence of management practices. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 16, p. 781-796, 1993.

RESURRECCION, A.P.; MAKINO, A.; BENNETT, J.; MAE, T. Effects of sulfur nutrition on the growth and photosynthesis of rice**. Soil Science and Plant Nutrition**, Oxford, v. 47, p. 611-620, 2001.

REUSSI, N.; ECHEVERRÍA, H.; ROZAS, H.S. Diagnosing sulfur deficiency in spring red wheat: plant analysis. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 34, p. 573-589, 2011.

RIBEIRO, K.G. **Rendimento forrageiro e valor nutritivo do capim-elefante "Anão", sob cinco doses de nitrogênio, ao atingir 80 e 120 cm de altura**. 1995. 60p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1995.

ROBINSON, D.; RORISON, I.H. A quantitative analysis of the relationships between root distribution and nitrogen uptake from soil by two grass species. **Journal of Soil Science**, Oxford, v. 36, p. 71-85, 1985.

RODRIGUES, R.C.; ALVES, A.C; BRENNECKE, K.; PLESE, L.P.M.; LUZ, P.H.C. Densidade populacional de perfilhos, produção de massa seca e área foliar do capim-xaraés cultivado sob doses de nitrogênio e potássio. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 63, p. 27-33, 2006.

ROSSIELLO, R.O.P.; ARAÚJO, A.P.; MANZATTO, C.V.; FERNANDES, M.S. Comparação dos métodos fotoelétrico e da interseção na determinação de área, comprimento e raio médio radicular. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, p. 633-638, 1995.

RUFTY JUNIOR.; T.W.; HUBER, S.C.; VOLK, R.J. Alterations in leaf carbohydrate metabolism in response to nitrogen stress. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 88, p. 725-730, 1988.

SALVAGIOTTI, F.; MIRALLES, D.J. Wheat development as affected by nitrogen and sulfur nutrition, **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v. 58, p. 39-45, 2007.

SALVAGIOTTI, F.; CASTELLARIN, J.M.; MIRALLES, D.J.; PEDROL, H.M. Sulfur fertilization improves nitrogen use efficiency in wheat by increasing nitrogen uptake. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 113, p. 170-177, 2009.

SAS INSTITUTE. **SAS® 9.1.2 windows**. Cary, 2004. 2 CD-ROM.

SANTOS, A.R. **Diagnose nutricional e respostas do capim-braquiária submetido a doses de nitrogênio e enxofre.** 1997. 115p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

SANTOS, J.H.S. **Proporção de nitrato e amônio na nutrição e produção dos capins Aruana e Marandu.** 2003. 81p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

SANTOS, A.R.; MONTEIRO, F.A. Produção e perfilhamento de *Brachiaria decumbens* Stapf. em função de doses de enxofre. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, p. 689-692, 1999.

SANTOS JUNIOR, J.D.G.; MONTEIRO, F.A. Nutrição em nitrogênio do capim-marandu submetido a doses de nitrogênio e idades de crescimento. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 60, p. 139-146, 2003.

SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ, 1974. 56 p.

SCAIF, A.; BURNS, I.G. The sulphate-S/total S ratio in plants as an index of their sulphur estate. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 91, p. 61-71, 1986.

SEEMANN, J.R.; SHAI EY, T.D.; WANG, J.L.; OSMOND, C.B. Environmental effects on photosynthesis, nitrogen use efficiency, and metabolic pools in leaves of sun and shade plants. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 84, p. 796-802, 1987.

SILVEIRA, C.P.; MONTEIRO, F.A. Morfogênese e produção de biomassa do capim-tanzânia adubado com nitrogênio e cálcio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, p. 335-342, 2007.

SILVEIRA, C.P.; OLIVEIRA, D.A.; BONFIM-DA-SILVA, E.; MONTEIRO, F.A. Two years of nitrogen and sulfur fertilizations in a signal grass pasture under degradation: changes in the root system, **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, p. 1195-1203, 2011.

SILVEIRA, M.C.T.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; SILVA, S.C.; EUCLIDES, V.P.B.; TORRES JUNIOR, R.A.A.; VALLE, C.B. Variáveis morfogênicas e estruturais passíveis de incorporação no atual protocolo de avaliação e seleção de cultivares de gramíneas tropicais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44., 2007, Jaboticabal. **Anais…** Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2007. 1 CD-ROM.

SINCLAIR, A.G. An autoanalyzer method for determination of extractable suphate in plant material. **Plant and Soil**. Dordrecht, v. 40, p. 693-697, 1974.

SKINNER, R. H.; COMAS, L.H. Root distribution of temperate forage species subjected to water and nitrogen stress. **Crop Science**, Madison, v. 50, p. 2178-2185, 2010.

SOUZA, S.R.; FERNANDES, M.S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M.S. (Ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006, cap. 9, p. 215-252.

SPENCER, K.; FRENEY, J.R.; JONES, B. A preliminary testing of plant analysis procedures for the assessment of the sulfur status of oilseeds rape. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 35, p. 163-175, 1984.

TABATABAI, M.A. Sulfur. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R. (Ed.). **Methods of soil analysis.** Madison: SSSA; ASA, 1982. pt. 2: Chemical methods, p. 501-538.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** 4th ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

TAKAHASHI, H.; KOPRIVA, S.; GIORDANO, M.; SAITO, K. HELL, R. Sulfur assimilation in photosynthetic organisms: Molecular functions and regulations of transporters and assimilatory enzymes, **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 62, p. 157-184, 2011.

TEDESCO, M.J.; VOLKWEISS, S.J.; BOHNEN, H. **Análise de solo, plantas e outros materiais.** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1985. 95 p. (Boletim Técnico, 5).

THOMAS, H. Analysis of the nitrogen response of leaf extension in *Lolium temulentum* seedlings. **Annals Botany**, London, v. 51, p. 363-371, 1983.

VALLE, C.B. Genetic resources for tropical areas: achievements and perpectives. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 19., 2001. **Proceedings**… São Pedro: Fundação de Estudos Agrários "Luiz de Queiroz", 2001. 1 CD-ROM..

VALLE, C.B.; EUCLIDES, V.P B.; VALÉRIO, J.R.; MACEDO, M.C M.; FERNANDES, C.D.; DIAS-FILHO, M.B. *Brachiaria brizantha* cv. Piatã: uma forrageira para diversificação de pastagens tropicais. **Seed News**, Pelotas, v. 11, p. 28-30, 2007.

VARIN, S.; CLIQUET, J.B.; PERSONENI, E.; AVICE, J.C.; LAVENANT, S.L. How does sulphur availability modify N acquisition of white clover (*Trifolium repens* L.)?. **Journal of Experimental Botany,** Oxford, v. 61, p. 225-234, 2010.

VAUGHN, K.C.; CAMPBELL, W.H. Immunogold localization of nitrate reductase in maize leaves. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 88, p. 1354-1357, 1988.

VITTI, G.C.; TREVISAN, W. Manejo de macro e micronutrientes para alta produtividade da soja. In: CÂMARA, G.M.S. (Ed.). **Soja:** tecnologia da produção II. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2000. p. 383-422.

VITTI, G.C.; LIMA, E.; CICARONE, F. Cálcio, magnésio e enxofre. In: FERNANDES, M.S. (Ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006, cap. 12, p. 299-325.

VOLENEC, J.J.; OURRY, A.; JOERN, B.C. A role for nitrogen reserves in forage regrowth and stress tolerance. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 97, p. 185-193, 1996.

WANG, Y.F.; WANG, S.P.; CUI, Z.Z.; CHEN, E.; SCHNUG, E.; HANEKLAU, S. Effects of sulphur supply on the morphology of shoots and roots of alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 58, p. 160-167, 2003.

WARNER, R.L.; KLEINHOFS, E. Genetics and molecular biology of nitrate metabolism in higher plants. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 85, p. 245-252, 1992.

WEDIN, D.A.; TILMAN, D. Species effects on nitrogen cycling: a test with perennial grasses. **Oecologia**, New York, v. 84, p. 433-441, 1990.

WERNER, J.C. **Adubação de pastagens.** Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 1986. 49p. (Boletim Técnico, 18).

WERNER, J.C.; MONTEIRO, F.A. Respostas das pastagens a aplicação de enxofre. In: Simpósio: ENXOFRE E MICRONUTRIENTES NA AGRICULTURA BRASILEIRA, 1998, Londrina. **Anais**... Londrina: Embrapa, CNPS; IAPAR, 1988. p. 87-102.

WERNER, J.C.; PAULINO, V.T.; CANTARELLA, H.; ANDRADE, N.O.; QUAGGIO, J.A. Forrageiras. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Fundação IAC, 1996. p. 263-274. (IAC. Boletim Técnico, 100).

WHITEHEAD, D.C. **Nutrient elements in grassland**: Soil-Plant-Animal relationship. New York: Cabi Publishing, 2000. 369p.

WILHELM, W.W.; McMASTER, G.S. Importance of the phyllochron in studing development and growth in grasses. **Crop Science**, Madison, v. 35, p. 1-3, 1995.

YANG, J.Z.; MATTHEW, C.; ROWLAND, R.E. Tiller axis obervations for perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and tall fescue (*Festuca arundinaceae* Schreb.): number of active phytomers probability of tiller appearance and number of roots per phytomer for three cutting heights. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Oxon, v. 41, p. 11-19, 1998.

ZHAO, F.J.; HAWKESFORD, M.J.; WARRILOW, A.G.S.; McGRATH, S.P.; CLARKSON, D.T. Responses of two wheat varieties to sulphur addition and diagnosis of sulphur deficiency. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 181, p. 317-327, 1996.