Mauro Alexandre Marabesi

Efeito do nitrogênio sobre o desenvolvimento foliar e sua
conseqüência na estrutura da copa em *Senna alata* (L.)
Roxb. (Leguminosae).

Effect of nitrogen on leaf development and its
consequences in the canopy vertical structure in *Senna*
alata (L.) Roxb. (Leguminosae).

São Paulo
2011

Mauro Alexandre Marabesi

Efeito do nitrogênio sobre o desenvolvimento foliar e sua
consequência na estrutura da copa em *Senna alata* (L.) Roxb.
(Leguminosae).

Effect of nitrogen on leaf development and its consequences in
the canopy vertical structure in *Senna alata* (L.) Roxb.
(Leguminosae).

Tese apresentada ao Instituto de
Biociências da Universidade de São
Paulo, para a obtenção de Título de
Doutor em Ciências, na Área de
Botânica.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Silveira
Buckeridge

São Paulo

2011

Ficha Catalográfica

Marabesi, Mauro Alexandre
Efeito do nitrogênio sobre o
desenvolvimento foliar e sua
consequência na estrutura da copa em
Senna alata (L.) Roxb. (Leguminosae).
Número de páginas 159

Tese (Doutorado) - Instituto de
Biotecnologia da Universidade de São
Paulo. Departamento de Botânica.

1. Ontogenia Foliar, carboidratos,
Senna alata, estrutura vertical da copa,
longevidade foliar. I. Universidade de
São Paulo. Instituto de Biotecnologia.
Departamento de Botânica

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof. Dr. Marcos Silveira Buckeridge
Orientador

Ao Prof Dr Marcos Silveira Buckeridge por ter aceitado ser meu orientador.

Aos técnicos dos laboratórios da fisiologia (Vivi, Eglee, Amanda e Aninha) pelo apoio durante estes 4 anos.

Ao Crisão, José e Raulzito pela amizade de longos anos

Ao pequeno Arthur por seu amor e a Paula por sua ajuda e principalmente por sua paciência nestes últimos meses nos quais fiquei insuportável.

A toda minha família (Adalberto, Regina, Aline e Carlos) pelo apoio durante estes difíceis 4 anos.

Ao Ivan salles por” 5.000.000 cafezinhos” e seu apoio durante os experimentos e nos momentos muito difíceis nos quais segurou a minha barra.

A Bruna, Talita, Andea Brandão, Débora, Cris, Augusto pela amizade e diversas discussões além de auxílio no lab ou durantes as coletas.

A Mari Ionashiro por sua ajuda em todas as fases deste trabalho e seu entusiasmo incondicional.

A todo o pessoal do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal pelo apoio e por terem aberto as portas para mim.

A todos os funcionários da botânica que sempre me ajudaram.

A Vinicius Scopacasa pela tradução do abstract

Ao CNPq pela bolsa

Índice

Introdução Geral	9
Capítulo I	
Influencia de diferentes fontes de nitrogênio na ontogenia foliar e na estrutura vertical da copa	14
1.1. Introdução	16
1.2. Objetivos	19
1.3. Material e métodos	20
1.3.1. Material vegetal	20
1.3.2. Desenho experimental	20
1.4. Coletas não destrutivas	21
1.4.1. Medidas da área foliar e comprimento foliar	21
1.4.2. Fenologia	22
1.4.3. Demografia	24
1.5. Coletas Destrutivas	24
1.5.1. Biomassa	24
1.5.2. Carboidratos não estruturais	25
1.6. Resultados	26
1.6.1. Área foliar de cada folha e área foliar total acumulada	26
1.6.2. Comprimento dos folíolos e crescimento no comprimento dos folíolos	28
1.6.3. Dinâmica foliar e foliolar	29
1.6.4. Longevidade foliar e fases de desenvolvimento	33
1.6.5. Biomassa e frações de massa no final do experimento	34
1.6.5. Carboidratos	36
1.6.5.1 Tratamento de NO_3	36
1.6.5.2. Tratamento de NH_4NO_3	39
1.6.5.3. Tratamento de NH_4	41
1.6.5.4. Análise entre tratamentos	43
1.7. Discussão	47
1.8. Apêndice	55
1.8.1. Análise dentro dos tratamentos por fenologia	55

1.8.2. Análise entre tratamentos por posição	60
Capítulo II	
Efeito de diferentes concentrações de NH₄ na ontogenia foliar e na estrutura vertical da copa	68
2.1. Introdução	69
2.2. Objetivos	70
2.3. Material e métodos	70
2.3.1. Desenho experimental	70
2.3.2. Coletas não destrutivas	71
2.3.2.1. Medidas da taxa de assimilação líquida saturada de luz	71
2.3.2.2. Demografia	72
2.3.3. Coletas destrutivas	72
2.3.3.1. Clorofila a e b	72
2.4. Resultados	72
2.4.1. Demografia	72
2.4.2. Longevidade foliar	75
2.4.3. Fases fenológicas	76
2.4.4. Taxa de assimilação líquida saturada de luz	80
2.4.5. Biomassa	84
2.4.6. Carboidratos e clorofilas	85
2.4.6.1. O Tratamento de 2 mM	86
2.4.6.2. O Tratamento de 4mM	87
2.4.6.3. O Tratamento de 8 mM	90
2.4.6.4. O Tratamento de 16 mM	94
2.4.6.5. O Tratamento de 32 mM	97
2.4.6.6. O Tratamento de 64 mM	101
2.4.7. Análise entre os tratamentos por posição	105
2.4.8. Análise entre os tratamentos por fases fenológicas	117
2.5. Discussão	121
2.6. Apêndice:	128
2.6.1. O Tratamento de 2 mM	128
2.6.2. O Tratamento de 4 mM	129

2.6.3.O Tratamento de 8 mM	130
2.6.4.O Tratamento de 16 mM	131
2.6.5.O Tratamento de 32 mM	133
2.6.6.O Tratamento de 64 mM	134
2.7.Análise entre os tratamentos	136
Conclusão geral	151
Resumo geral	153
Abstract	155
Referências bibliográficas	157

INTRODUÇÃO GERAL

Introdução geral

As espécies de plantas podem ser classificadas como de crescimento rápido e de crescimento lento. As espécies de crescimento rápido possuem baixa longevidade foliar, altas taxas fotossintéticas e de respiração enquanto as espécies de crescimento lento possuem alta longevidade e baixas taxas fotossintéticas e de respiração. Esta diferença é interpretada em termos do ambiente no qual estas plantas vivem. As espécies de crescimento lento ocupam ambientes pobres em minerais e o aumento da longevidade é interpretado como uma estratégia de conservação dos recursos. O contrário ocorre para as plantas de crescimento rápido que vivem em ambientes com altas disponibilidades de recursos. Desta forma, a longevidade foliar está relacionada ao crescimento das plantas e é uma parte integrante da estratégia de captação de recursos das plantas. (LAMBERS & POORTER 1992; GODOY *et al*, 2009)

Em um dos primeiros resumos da literatura sobre a consequência ecológica do tempo de vida foliar, CHABOT & HICKS, 1982, estabelecem, pela primeira vez, a idéia de que o tempo de vida da folha está relacionado à sua economia de carbono e, portanto, a melhor forma de entender-se a longevidade é através de análises de custo e benefício. Nestas análises deve-se levar em conta o ganho de carbono pela fotossíntese, as perdas relacionadas à respiração e o custo de construção das folhas. Desta forma, os autores neste mesmo trabalho desenvolvem a idéia de que o tempo de vida da folha seria um multiplicador da taxa de fotossíntese, e, portanto, seria o mecanismo pelo qual as plantas com baixa taxa de assimilação aumentam seu ganho de carbono.

KIKUZAWA, 1991, discute o modelo proposto por CHABOT & HICKS, 1982, e argumenta que se a longevidade ótima da folha é o período necessário para maximizar o seu ganho líquido de carbono. A solução aparente é que a folha só deve ser descartada quando sua taxa de assimilação líquida é zero. Ou seja, a planta deve reter as folhas até que nenhum ganho positivo destas seja alcançado. O autor diz que apesar deste argumento ser plausível não existe uma razão para diminuir a longevidade de uma folha abaixo de seu limite

fisiológico e argumenta que existem algumas plantas que senescem enquanto estão com o ganho favorável de carbono.

KIKUZAWA, 1991 argumenta que o fator que deve ser maximizado é o ganho de carbono da planta toda e não apenas de uma folha. Usando esta análise alternativa ele desenvolveu uma fórmula que calcula o ganho de carbono da folha que maximiza o ganho de carbono da planta. E observou que a longevidade da folha é determinada por três parâmetros: a taxa de assimilação líquida, o custo de construção desta folha e o tempo no qual a fotossíntese é zero. E, a partir desta análise, fez as três previsões a seguir 1-conforme a taxa de assimilação máxima aumenta, a longevidade diminui. 2-Conforme a taxa de declínio da fotossíntese aumenta a longevidade diminui e 3-conforme o custo de construção aumenta a longevidade também aumenta. Este autor argumenta que apesar destas previsões não serem novas nem inesperadas, elas seguem uma análise que provê um mecanismo unificador para a variação da longevidade foliar.

Paralelamente a este trabalho, REICH *et al*, 1991, mediram diversas características estruturais e fisiológicas de 23 espécies de árvores da Amazônia, e verificaram que o tempo de vida foliar é um determinante tanto da estrutura foliar como de seu funcionamento. Estendendo este trabalho para diversos ecossistemas REICH *et al*, 1992, verificaram que conforme a taxa de assimilação, a condutância foliar (uma medida da quantidade e abertura dos estômatos) e a quantidade de nitrogênio foliar aumentam a longevidade foliar diminui. E verificaram também que conforme a área foliar específica aumenta a longevidade diminui, porém, esta relação foi menos significativa do que as duas relações descritas acima. Podemos verificar que tanto o modelo teórico de KIKUZAWA 1991 como as análises de características de folhas feitas por REICH *et al*, 1991 e 1992, chegam à mesma conclusão.

DIEMER & KÖRNER, 1996 ao analisarem o ganho de carbono das folhas para espécies de gramíneas, dividiram a longevidade foliar em quatro fases de desenvolvimento 1) expansão; 2) maturidade; 3) início de senescência e 4) senescência completa. Estes autores fizeram esta diferenciação porque tanto a fotossíntese como a respiração modificam-se ao longo do desenvolvimento da

folha. Eles verificaram que nas fases de maturidade e início de senescência ocorre cerca de 70 a 80% do ganho de carbono da folha.

Esses trabalhos de cunho ecológico, de forma geral, mostram que a longevidade das folhas é extremamente dependente da sua concentração de nitrogênio, uma vez que a taxa de assimilação das folhas é extremamente dependente da quantidade de nitrogênio foliar (FIELD & MOONEY 1986). Porém esses trabalhos não indicam qual seria o mecanismo fisiológico responsável pela longevidade foliar, sendo muito mais focados nas consequências ecológicas da longevidade foliar.

Em 1990 SHEEN, demonstrou que o acúmulo de carboidratos em protoplastos de *Zea mays* leva à repressão da expressão de genes da fotossíntese. Posteriormente diversos trabalhos (KRAPP *et al* 1991 e 1993, STITT *et al* 1990 e referências contidas nestes artigos) que de alguma forma manipularam a concentração de açúcar, demonstraram o mesmo fenômeno. Porém nesses trabalhos a concentração de açúcar utilizada é muito maior do que a encontrada nas condições fisiológicas das folhas, o que levanta a dúvida de que este mecanismo não atuaria em condições fisiológicas.

PAUL & DRISCOLL 1997, levantaram a hipótese de que o acúmulo de carboidratos presentes nas folhas de plantas deficientes de nitrogênio seriam responsáveis pela diminuição da longevidade foliar. Nesse trabalho esses autores retiraram o nitrogênio da solução nutritiva de plantas anteriormente suficientes em nitrogênio (criando a deficiência de nitrogênio nas plantas) e deixaram algumas plantas totalmente iluminadas, enquanto em outras plantas algumas folhas foram sombreadas. Nas plantas totalmente iluminadas houve um acúmulo de carboidratos e uma rápida senescência das folhas (analisada através do declínio na taxa de fotossíntese). Porém nas plantas com algumas folhas sombreadas não houve acúmulo de carboidratos e não houve redução da taxa fotossintética apesar da deficiência de nitrogênio. Com esses dados, os autores concluíram que os carboidratos sinalizam a deficiência do nitrogênio através do desbalanço da relação fonte: dreno da planta. Desta forma evidenciando que o mecanismo que sente açúcar opera em condições fisiológicas.

ONO *et al* 2001, seguem essa idéia de que a concentração de açúcar é o mecanismo pelo qual a folha sente sua capacidade fotossintética e através de experimentos de sombreamento também verificaram que a concentração de açúcar é a responsável pelo declínio da fotossíntese. Outros trabalhos também demonstraram que o acúmulo de açúcares é o responsável pela indução da senescência foliar em condições fisiológicas (ARAYA *et al*, 2006 ; WINGLER *et al*, 2006; POURTAU, 2006).

Trabalhando em alto CO₂ MILLER *et al* 1997 observaram que a diminuição da taxa de assimilação não seria devida à aclimação (redução desta causada pela quantidade de açúcar) e sim à uma aceleração do desenvolvimento da folha. Portanto, quando a taxa de assimilação é medida em um único ponto no tempo as folhas do controle estão na fase de maturidade, enquanto as folhas de alto CO₂ já estariam senescendo. Com estes dados os autores levantaram a interessante hipótese de que os carboidratos podem mudar o desenvolvimento da folha. Para comprová-la estes autores criaram plantas transgênicas com quantidade reduzida de rubisco e, portanto, com menores taxas de fotossíntese e verificaram que, neste caso, a longevidade foliar aumenta conforme o esperado por sua hipótese. (MILLER *et al* 2000). Apesar deste trabalho ser intitulado como: Regulação por carboidratos do desenvolvimento foliar, estes autores não mediram a quantidade de carboidrato neste experimento.

Até agora podemos verificar que todos os trabalhos importam-se apenas com a folha separada da análise da copa; usando uma abordagem diferenciada a estes trabalhos BAZZAZ & HARPER, 1977, argumentam que na realidade as folhas são partes integrantes da copa e, portanto, a copa pode ser vista como uma população de folhas. E que o crescimento da planta possui analogias com o crescimento de uma população de organismos, desta forma, os módulos da copa (as folhas) possuem um ciclo de vida que envolve nascimento, uma fase juvenil, uma fase de maturidade, na qual contribui com recursos para o nascimento de novas folhas, senescência e morte.

ACKERLY, 1999, usando este mesmo princípio propõe que existe uma relação entre o tempo de vida da folha, o número de folhas presentes na copa e a taxa de iniciação das folhas. No seu modelo de copa o número de

nascimentos e mortes são iguais, porque considera a copa de plantas maduras. Neste caso, o tempo de vida da folha é dado pela razão entre o número de folhas que a copa consegue manter e a taxa de nascimento. O autor verificou com este modelo que em espécies de árvores pioneiras tropicais, que são plantas de crescimento rápido, a senescência das folhas é causada primariamente por sua posição dentro da copa e não pela idade propriamente dita das folhas.

Com base nos estudos comentados acima podemos concluir que a longevidade foliar e a ontogenia da folha são fatores importantes para o ganho de carbono da planta. Como o nitrogênio é um dos minerais que possui um efeito profundo no acúmulo de biomassa das plantas, surge a questão de que este efeito possa estar relacionado a uma mudança no desenvolvimento da folha que, por sua vez, levaria a uma mudança na estrutura da copa.

Para verificar se esta hipótese está correta o presente trabalho visou a longevidade das folhas como conseqüências dos processos de iniciação foliar e de mortalidade das folhas. Para verificarmos se existe uma mudança no desenvolvimento da folha a longevidade foi dividida em três fases de desenvolvimento (ou fenológicas). Usamos praticamente as mesmas fases usadas por DIEMER & KÖRNER, 1996, porém não dividiremos a senescência em duas fases. Desta forma, teremos a fase de expansão na qual a folha é um dreno, a fase de maturidade na qual ocorre o ápice da atividade fisiológica e a fase de senescência, onde ocorre a queda da atividade fisiológica. E estas fases serão apresentadas na forma de porcentagens em relação à longevidade.

Foi analisada a quantidade de carboidratos não estruturais presentes na copa para verificar se há indícios de que estes podem estar envolvidos no mecanismo fisiológico que controla a taxa de mortalidade.

A espécie utilizada será a *Senna alata* (L.) Roxb pertencente à família Leguminosae, subfamília Caesalpinoideae. Os indivíduos desta espécie quando adultos são arbustos com estatura de 3 a 4 metros e folhas compostas (12 folíolos por folhas). Esta espécie pode ser considerada pioneira e ocorre na América do Sul e Central, África, Madagascar e Ásia. Esta espécie foi escolhida por ser uma pioneira e desta forma poder ser classificada como uma planta de

crescimento rápido e, portanto, possuir baixa longevidade foliar, característica necessária para podermos determinar principalmente as taxas de mortalidade. Como a família Leguminosae é uma das mais representativas da nossa flora, os resultados do presente trabalho terão maior alcance para a extrapolação dos dados. Outro motivo da escolha dessa espécie é que em nosso trabalho de mestrado (MARABESI, 2007) verificamos que quando exposta a uma atmosfera de 720 ppm de CO₂ apresentou uma mudança na longevidade foliar e desta forma, podemos intuir que esta espécie possui uma plasticidade nesta característica.

CAPÍTULO 1

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES FONTES DE NITROGÊNIO NA
ONTOGENIA FOLIAR E NA ESTRUTURA VERTICAL DA COPA

1.1. Introdução

O nitrogênio figura entre os elementos minerais mais abundantes das plantas e é tido como um dos principais fatores limitantes destas. A planta absorve principalmente o nitrogênio na forma de nitrato (NO_3^-) ou na forma de amônio (NH_4^+). (Ambas as formas, por uma questão de facilitação de leitura, daqui por diante serão grafadas apenas como NO_3 e NH_4 respectivamente). Ambas as formas são absorvidas pelas raízes, podendo ser reduzidas a nitrogênio orgânico na própria raiz. Isto parece ser obrigatório para o NH_4 enquanto o NO_3 , dependendo da espécie, pode ser reduzido na raiz ou transportado pelo xilema e reduzido a nitrogênio orgânico nas folhas (SODEK, 2004).

Se a planta absorve NO_3 o primeiro passo de sua assimilação é sua redução pela enzima redutase do nitrato, esta enzima como dito anteriormente, está presente tanto nas folhas como nas raízes. Esta enzima está localizada no citoplasma e necessita de poder redutor, na forma de NADH ou NADPH. Este poder redutor é fornecido por carboidratos, se a enzima está localizada na raiz, ou vem direto da fotossíntese se a enzima está localizada na folha. O produto desta reação é o nitrito (NO_2^-). O nitrito é tóxico para as plantas e deve ser rapidamente transformado em NH_4 . (reação catalisada pela enzima redutase do nitrito) que por sua vez será incorporado em aminoácidos. Esta reação ocorre no cloroplasto usando-se poder redutor advindo da fotossíntese quando realizada nas folhas ou, se realizada no plastídeo da raiz, necessita de carboidratos. Portanto, a transformação do NO_3 em NH_4 , consome oito elétrons sendo dois consumidos pela redutase do nitrato e seis pela redutase do nitrito.

Por outro lado, se a planta absorve NH_4 , estas duas etapas anteriores são puladas e desta forma há uma economia de poder redutor. Independente da absorção direta de NH_4 , ou se este advém da redução do NO_3 , este é incorporado em aminoácidos no cloroplasto. O NH_4 assim como o nitrito também é tóxico para as plantas quando acumulado em grandes concentrações, e muitas plantas sofrem toxicidade quando crescidas em altas concentrações de NH_4 .

Devido à toxicidade do NH_4 o sistema que o assimila funciona mesmo em baixas concentrações desta substância. Como a eficiência deste processo é muito superior à sua taxa de produção (principalmente pela redução do nitrato) o NH_4 é mantido em baixas concentrações nos tecidos vegetais. (SODEK, 2004). Como será descrito posteriormente pode ocorrer o desbalanço entre o sistema que produz NH_4 e o que o consome. A assimilação do NH_4 ocorre pela enzima sintetase da glutamina, que catalisa a união do NH_4 com a glutamina formando glutamato. Esta reação é acoplada com a da enzima denominada amidatransferase de glutamina: 2-oxoglutarato (abreviada como GOGAT). A reação catalisada pela GOGAT necessita de dois elétrons que são fornecidos pela ferredoxina (quando realizada no cloroplasto) ou NADH (quando realizada em tecidos não verdes). Esta enzima usa como substrato o 2-oxoglutarato e o glutamato formado pela enzima anterior, formando duas moléculas de glutamina. Uma destas moléculas retorna ao começo do ciclo para ser usada pela sintetase da glutamina, enquanto a outra molécula é utilizada para a formação de outros aminoácidos via transaminação (SODEK, 2004).

Em uma revisão de trabalhos com tabaco STITT *et al*/ 2002 salientam que o nitrogênio se movimenta ao longo da planta por vias complexas que interagem entre si e com o fluxo de carbono e a regulação o pH celular. Neste trabalho foram analisados diversos experimentos e foi verificado que existem mudanças diurnas drásticas no metabolismo de nitrogênio que são causadas por um desbalanço entre a assimilação do nitrato no primeiro período de luz do dia. (STITT *et al* , 2002).

Nas folhas do tabaco os transcritos da redutase do nitrato apresentam seu pico de abundância no final da noite, o que leva a um aumento da quantidade desta proteína em três vezes durante o primeiro período de iluminação. A iluminação também leva à ativação pós-transcricional desta enzima e como resultado a taxa de assimilação do NO_3 supera em muito sua captação pelas raízes e como resultado existe o esgotamento do pool de NO_3 da folha, como esta taxa de assimilação supera também a atividade da GOGAT em 25%, ocorre o acúmulo de glutamina e NH_4 durante este período. (STITT *et al* , 2002).

Este desbalanço é corrigido mais tarde ao longo do curso diário pela inibição progressiva da assimilação de NO_3 , que é causada pela diminuição dos transcritos desta enzima com o começo da iluminação e sobreposto a isso existe a inativação pós transcricional da enzima, e como resultado a assimilação do NO_3 diminui em duas vezes a partir do segundo período de iluminação. Nesta parte do dia a sintetase da glutamina aumenta a sua atividade e consome o excesso de NH_4 produzido no início da manhã. (STITT *et al*, 2002).

A assimilação do NO_3 é integrada com mudanças no metabolismo de carbono. Durante a assimilação do NO_3 os produtos da fotossíntese são divergidos para a formação de fosfoenolpiruvato (ao invés de sacarose) que entra no metabolismo dos ácidos orgânicos e possui duas funções distintas. Em uma destas funções o fosfoenolpiruvato é usado para sintetizar malato que é usado como um contra íon que previne a alcalização das células durante a assimilação de NO_3 . Na segunda função ele é transformado no 2-oxoglutarato, que é, como dito anteriormente, acceptor primário do NH_4 . Ou seja, esta reprogramação do metabolismo de carbono leva ao acúmulo do 2-oxoglutarato, malato e outros ácidos orgânicos. Como o NO_3 também reprime a transcrição da sub-unidade reguladora da ADP-glicose pirofosforilase (primeira enzima da síntese de amido) e como resultado há um decréscimo da síntese de amido. O metabolismo dos carboidratos e do nitrogênio está ligado de diversas maneiras, o 2-oxoglutarato. (STITT *et al*, 2002).

Como estas mudanças ocorrem em diferentes fases do período iluminado, durante a primeira fase de luz a redutase do nitrato e a fosfoenolpiruvato carboxilase estão em sua atividade máxima enquanto a sintetase da glutamina, a piruvatoquinase, a citrato sintase (da mitocôndria) a isocitrato desidrogenase dependente do NADP estão em mínima. Desta forma, ocorre o acúmulo de malato, a diminuição do citrato e o acúmulo de NH_4 e glutamina. Na segunda fase do período a atividade destas enzimas se inverte e, desta forma, ocorre a assimilação do amônio juntamente com altas taxas de produção do 2-oxoglutarato. (STITT *et al*, 2002).

Infelizmente estudos tão detalhados como estes resumidos por STITT *et al*, 2002, nunca foram realizados com NH_4 como a única fonte de nitrogênio. O

grande problema é que a maioria das plantas apresenta toxicidade ao NH_4 quando este é a única fonte de nitrogênio.

LOPES & ARAUS 2008 fazem uma das primeiras análises genômicas e fisiológicas em resposta ao NH_4 , NO_3 e NH_4NO_3 . Neste trabalho foi observado que ocorreu diferença na expressão de genes do metabolismo de nitrogênio, sinalização e fotossíntese quando o tratamento de NO_3 foi comparado com o de NH_4 . O tratamento de NH_4 induziu genes na partição de carbono, na respiração, no destino das proteínas e no desenvolvimento em relação ao tratamento de NO_3 . Comparando o tratamento de NH_4 com NH_4NO_3 houve poucas diferenças e, portanto, os autores concluíram que estas duas fontes de nitrogênio possuem um padrão geral de expressão gênica semelhante. Houve diferença apenas em poucos genes que participam do destino das proteínas (proteases) e um gene do desenvolvimento.

1.2.Objetivos

O objetivo deste experimento é definir a forma de nitrogênio (NH_4 , NO_3 ou NH_4NO_3) que resulta em maior biomassa das plantas (a biomassa está sendo usada como um integrador do crescimento ao longo do experimento) e que seja adequada a análises fenológicas e demográficas.

Verificar se ocorreu diferença nos perfis verticais de carboidrato e como estes carboidratos se comportam ao longo do desenvolvimento das folhas, descrever qual o efeito das diferentes fontes de nitrogênio na estrutura da copa.

Verificar se mudanças na longevidade leva a uma mudança no padrão da ontogenia foliar, bem como qual o efeito das diferentes fontes de nitrogênio nesta ontogenia e na quantidade de carboidratos ao longo do desenvolvimento.

1.3.Material e métodos

1.3.1.Material Vegetal

As sementes usadas neste experimento foram coletas na seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas do Jardim Botânico de São Paulo conforme descrito em Marabesi 2007.

Oitenta sementes foram escarificadas com lixa e colocadas para germinar em duas bandejas com vermiculita na B.O.D. com temperatura constante de 28oC e 12 horas de fotoperíodo. Estas bandejas foram regadas a cada dois dias até os cotilédones de todas as plantas emergirem. A escarificação foi considerada o começo do experimento e conforme os cotilédones emergiam as plantas eram marcadas individualmente.

As plântulas foram mantidas durante uma semana na casa de vegetação antes de serem colocadas no sol total para evitar fotoinibição, e após esta semana foram envasadas. Os vasos utilizados foram tubos de PVC com 10cm de diâmetro e 1,2m de altura (com um volume aproximado de 9,5L) preenchidos com areia e vermiculita na proporção 3:2. Durante o experimento estes vasos foram regados três vezes por dia.

1.3.2.Desenho experimental

O experimento foi realizado nos jardins do instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, localizado em São Paulo (23°33'57.23"S 46°43'52.90"W) durante os meses de agosto a dezembro de 2008.

Através de sorteio foram estabelecidos três grupos experimentais com 10 plantas em cada grupo. Cada um destes grupos recebeu uma fonte diferente de nitrogênio e as três fontes de nitrogênio utilizadas foram: NO₃, NH₄ e NH₄NO₃. Desta forma obtivemos um desenho de blocos totalmente casualizados.

Devido à herbivoria e/ou erros na manipulação, cada tratamento perdeu 2 plantas, de forma que o número final foi de 8 plantas por tratamento.

As plantas de cada tratamento receberam 100ml de solução nutritiva por semana. Esta solução foi baseada na solução de Hogland's. Independente da forma que o nitrogênio foi dado sua concentração final foi de 15mM.

Tabela 1: Quantidade para 1litro de solução nutritiva usada no experimento. O número entre parênteses representa a concentração das soluções estoque dos nutrientes. Para cada planta foi colocado 100ml.

	NH ₄	NH ₄ NO ₃	NO ₃
KH ₂ PO ₄ (0,2M)	5ml	5ml	5ml
Ca(NO ₃) ₂ (1M)	0ml	0ml	5ml
Ca(Cl) ₂ (1M)	5ml	5ml	0ml
MgSO ₄ (0,4M)	5ml	5ml	5ml
KNO ₃ (1M)	0ml	0ml	5ml
KCl (1M)	5ml	5ml	0ml
NH ₄ Cl (1M)	15ml	0ml	0ml
NH ₄ NO ₃ (1M)	0ml	7,5ml	0ml
Micronutrientes	5ml	5ml	5ml
Ferro EDTA	10ml	10ml	10ml

1.4.Coletas não destrutivas

1.4.1.Medidas da área foliar e comprimento foliar

O folíolo distal do lado direito (visto a partir do caule) foi considerado o primeiro folíolo e foi sempre utilizado para as medidas de crescimento. O comprimento deste folíolo foi medido ao longo de cento e quarenta dias em intervalos de três vezes por semana (segunda, quarta e sexta-feira) com um paquímetro digital da Mitutoyo ao longo da nervura central até seu comprimento estabilizar. O comprimento do folíolo foi considerado estabilizado quando três ou quatro medidas consecutivas foram aproximadamente iguais. Durante o experimento as duas folhas mais novas foram medidas em cada coleta de dados não destrutiva, desta forma todas as folhas de todas as plantas foram medidas.

O crescimento foi avaliado na forma de taxa de crescimento diário expressa em mm dia⁻¹. O crescimento foi definido como a diferença entre os comprimentos de uma folha em duas coletas consecutivas. Este valor dividido pelo tempo entre as duas coletas nos dá a taxa de crescimento deste folíolo.

A área foliar total por planta foi calculada como a somatória da área de todas as suas folhas e a área das folhas foi calculada como a somatória da área de todos os seus folíolos. Estas medidas foram realizadas a cada duas semanas.

A área de cada folíolo foi determinada de forma não destrutiva medindo o comprimento (como descrito anteriormente) e a largura máxima de todos os folíolos e calculada de acordo com a fórmula: $\text{Área}_{\text{folíolo}} = 0,78 \times \text{comprimento} \times \text{largura}$. (Marabesi 2007)

1.4.2.Fenologia

As folhas ao emergir foram marcadas de acordo com a metodologia de BAZZAZ & HARPER (1977) e numeradas de acordo com sua ordem de emergência, desta forma o cotilédone foi considerado a folha de primeira ordem, a primeira folha foi considerada a folha de segunda ordem e assim por diante.

Todas as plantas foram observadas três vezes por semana (segunda, quarta e sexta-feira) e foram anotadas as datas de emergência, morte e início de senescência para todos os folíolos. As folhas foram consideradas emergidas quando a lâmina foliar se destaca do caule (KIKUZAWA, 1983), o início da senescência foi considerado quando surgiram os primeiros sinais de amarelamento ou redução da coloração verde dos folíolos, e os folíolos foram considerados mortos quando mais da metade de sua área estava amarela conforme representado na prancha 1

Prancha 1: esquema representativo das principais fases de desenvolvimento, de A a F: folha em expansão, G folha madura e H detalhe de uma folha senescente no primeiro plano e a seta aponta para o folíolo considerado morto mas ainda preso a folha.

A longevidade dos folíolos foi calculada como a diferença entre a data de emergência e a data de morte (as datas são marcadas como dias de experimento e não como data do calendário). Neste trabalho consideramos que a longevidade do folíolo é dividida em 3 fases: uma fase de expansão, uma fase de maturidade e uma fase de senescência. O tempo de expansão foi definido como a diferença entre a data de emergência e a data do final da expansão. O

tempo de maturidade foi definido como a diferença entre a data do final da expansão e do início da senescência. E o tempo de senescência foi definido como a diferença entre a data do início da senescência e a data de morte. O tempo de emergência foi definido como a diferença entre as datas de iniciação de duas folhas de ordem consecutivas.

Para cada fase foi calculado o tempo porcentual destas, que representa a porcentagem de tempo que cada fase dura em relação à longevidade do folíolo.

1.4.3.Demografia

O número de folhas e folíolos foi calculado usando a equação padrão que descreve o crescimento de uma população: $N_{t+1} = N_t + \text{Nascimentos} - \text{Mortes}$, onde N é o número de folhas ou de folíolos. Consideramos para este trabalho que emigrações e imigrações estão ausentes.

1.5.Coletas destrutivas

1.5.1. Biomassa

No final do experimento, as plantas foram divididas em caule, raízes e folhas. As raízes e o caule foram colocados em sacos de papel e estes colocados no forno para secarem a 60º centígrados até atingirem massa seca constante. Para garantir que a massa seca estava constante, após 5 dias no forno as massas presentes nos caules e raízes foram medidas com um balança de precisão e retornadas para o forno. 24 horas depois estes caules e raízes foram medidos novamente e se a massa diminuiu menos de 5% do valor anterior considerou-se que a massa seca estava constante. No caso da massa diminuir mais do que 5%, as amostras foram retornadas para o forno e este procedimento repetido até a massa diminuir menos de 5%.

As folhas foram coletadas individualmente junto com a raque em sacos de alumínio e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e guardadas no

freezer a -20° C até a análise dos carboidratos não estruturais. No momento da análise estas folhas foram secas em liofilizador e pesadas na mesma balança analítica. Neste caso as raques foram separadas dos folíolos durante a determinação da massa.

1.5.2.Carboidratos não estruturais

Cada folha foi moída em moinho de bola e 10 mg do pó de folhas resultantes foram extraídos com 500 µL de etanol 80 % (v/v), 30 minutos em banho-maria a 80 °C, por 3 vezes, totalizando 1,5 mL. Após centrifugação (13000 g, 5 minutos), os sobrenadantes foram combinados, secos em speed vac e ressuspensos em 1 mL de água deionizada. A análise da quantidade de glucose, frutose e sacarose foi determinada através de Cromatografia de Troca Iônica de Alto Desempenho com Detector de Pulso Amperométrico (HPLC) modelo DX500, em coluna CarboPac PA-1 (Dionex Corporation, Sunnyvale, CA, EUA) através de eluição isocrática com 200mM de hidróxido de sódio em água, com fluxo 1mL/min : 0-15 min 50 % NaOH 200 mM e 50 % H₂O, 15-20 min 100 % NaOH 200 mM, 20-25 min 50 % NaOH 200 mM e 50 % H₂O. As áreas de cada pico serão corrigidas de acordo com a sensibilidade do detector para cada açúcar.

A análise de amido seguiu o método de AMARAL *et al* (2007), no qual os precipitados da extração etanólica foram secos na bancada em temperatura ambiente. Nestes foram adicionados 500 µL de α-amilase termoestável (120 U.mL⁻¹) da bactéria *Bacillus licheniformis* (MEGAZYME) diluída em tampão MOPS pH 6,5 10 mM. As amostras foram incubadas a 75 °C por 30 minutos. Este procedimento foi repetido mais uma vez, totalizando 1 mL de enzima. Após resfriamento até 50 °C, foram adicionados 500 µL de amiloglicosidase (30U.mL⁻¹) do fungo *Aspergillus niger* (MEGAZYME) diluída em tampão acetato de sódio pH 4,5 100mM e as amostras foram incubadas por 30 minutos. Este procedimento foi repetido novamente, totalizando 2mL de enzima. Posteriormente, alíquotas de 50 µL de extrato serão incubadas com 250 µL da

solução do kit GODPOD (Glicose PAP Liquiform/CENTERLAB), contendo as enzimas glucose oxidase e peroxidase e os reagentes 4-aminoantipirina e fenol, a 30 °C, por 15 minutos. O teor de glucose liberado será determinado em leitor de microplacas de Elisa, a 490 nm. A glucose liberada será calculada e ajustada (-10 %) para a massa de glucose ligada que está presente no amido.

1.6.Resultados

1.6.1.Área foliar de cada folha e área foliar total acumulada

Independentemente do tratamento a área de cada folha aumentou com o aumento da ordem foliar, como representado na Tabela 2. Este comportamento fez com que a área foliar total acumulada tenha crescido em exponencial, como visto na Figura 1. Observando a Tabela2 fica evidente que as folhas do tratamento de NH_4 e do tratamento de NH_4NO_3 não apresentam diferenças significativas entre si (com exceção da sétima folha). O tratamento de NO_3 possuiu as menores folhas, desde a segunda folha. Desta forma a área foliar acumulada foi maior no tratamento de NH_4 seguida pelo NH_4NO_3 e por último o tratamento de NO_3 .

Tabela2: área foliar (cm^2) de cada folha quando totalmente expandida para os três tratamentos. Dados como média $\pm$ Desvio padrão. N = 8, com exceção da 1ª e 2ª folhas do tratamento de NH_4NO_3 onde N = 6 e N = 7 respectivamente. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$.

	NH_4	NH_4NO_3	NO_3
cotilédone	$3,6 \pm 0,65^A$	$3,9 \pm 0,45^A$	$3,8 \pm 0,39^A$
1ª folha	$4,5 \pm 0,98^A$	$5,3 \pm 0,20^A$	$4,5 \pm 0,59^A$
2ª folha	$9,6 \pm 1,63^A$	$7,2 \pm 0,45^A$	$5,7 \pm 0,82^B$
3ª folha	$15,1 \pm 2,50^A$	$12,7 \pm 2,94^A$	$7,8 \pm 0,99^B$
4ª folha	$29,3 \pm 4,23^A$	$21,4 \pm 2,82^A$	$13,9 \pm 3,03^B$
5ª folha	$46,5 \pm 6,87^A$	$31,8 \pm 5,28^A$	$20,3 \pm 1,34^B$
6ª folha	$62,8 \pm 5,69^A$	$44,2 \pm 7,36^A$	$20,4 \pm 1,58^B$
7ª folha	$78,0 \pm 6,18^A$	$47,6 \pm 8,29^B$	$29,1 \pm 9,57^C$
8ª folha	$116,2 \pm 25,31^A$	$76,0 \pm 22,76^A$	$38,5 \pm 16,66^B$
9ª folha	$124,7 \pm 19,91^A$	$103,8 \pm 19,51^B$	Não expandiu

Figura 1: Área foliar total acumulada para os três tratamentos. ▲ NO_3 ; ■ NH_4 ; ● NH_4NO_3 . Os números indicam a última folha totalmente expandida. A 9ª folha do tratamento NO_3 não completou sua expansão na última coleta de área foliar.

1.6.2.Comprimento dos folíolos e crescimento no comprimento dos folíolos

O comprimento do 1º folíolo de cada folha seguiu a mesma tendência da área foliar, ou seja, aumentou com a ordem foliar independente do tratamento. A taxa de crescimento em comprimento (mm dia^{-1}) também aumentou com a ordem foliar e para as folhas da mesma ordem foi maior no tratamento de NH_4 , seguido pelo tratamento de NH_4NO_3 e por último o tratamento de NO_3 .

Observando a Figura 2 fica claro que o crescimento em comprimento dos folíolos começa quando o folíolo de uma ordem inferior parou seu crescimento (para as folhas de ordens pequenas) ou quando estavam parando de crescer (folhas com ordem superior).

Figura 2: Comprimento do 1º folíolo de cada folha (mm) para os três tratamentos. As folhas estão representadas de acordo com sua ordem, desde a 1ª até a 11ª no tratamento de NO_3 , e da 1ª a 12ª nos tratamentos de NH_4 e NH_4NO_3 .

1.6.3. Dinâmica foliar e foliolar

Nesta análise os cotilédones são considerados como a folha de 1ª ordem e a 1ª folha como folha de segunda ordem e assim por diante. As folhas possuíam o padrão de emergência sucessivo (emergência de uma folha por vez) durante o período experimental e as mortes começaram a partir dos 70 dias de experimento aproximadamente.

A fonte de nitrogênio não possuiu efeito nas taxas de iniciação foliar, como pode ser visto pela inclinação da reta de regressão na figura 3. O tratamento, por outro lado, teve efeito na mortalidade, a qual foi maior no tratamento de NH_4 e os outros dois tratamentos ficaram com valores muito próximos. O número de folhas no final do experimento foi o resultado das taxas de nascimento e mortalidade durante o experimento e foi maior para os tratamentos de NO_3 e NH_4NO_3 (ambos terminaram o experimento com 8 folhas) e menor no tratamento de NH_4 , que terminou o experimento com 6 folhas.

Figura 3: Número médio de folhas por planta para os três tratamentos. ■ Número médio de folhas nascidas durante o experimento; □ Número médio de folhas presentes por planta durante o experimento. As linhas de regressão são: $Y = 0,0798x + 0,3818$ e $R^2 = 0,9901$ para o tratamento de NO_3 , $Y = 0,0923x + 0,3457$ e $R^2 = 0,9951$ para o tratamento de NH_4 e $Y = 0,0878x + 0,444$ e $R^2 = 0,9948$ para o tratamento de NH_4NO_3 .

Como uma folha composta é formada por muitos folíolos, a Figura 4 mostra a estrutura etária dos folíolos de cada ordem foliar, sua taxa de iniciação e o número atual de folíolos. Neste caso o cotilédone foi considerado como uma folha que possui dois folíolos. A taxa de iniciação dos folíolos possuiu a mesma tendência das folhas, com a diferença que sua regressão foi melhor explicada por uma equação polinomial de 2º grau. Esta diferença se deve ao fato dos números de folíolos por folhas aumentar com o aumento da ordem foliar (a exceção ocorreu nas folhas de 3ª e 4ª ordem). Os tratamentos de NH_4 e NH_4NO_3

possuíram as maiores taxas de iniciação, uma vez que produziram o mesmo número de folhas, conforme visto anteriormente, porém as folhas de ordem maior possuíam mais folíolos do que as folhas do tratamento de NO_3 . Novamente a mortalidade foi mais afetada pelo tratamento e foi maior no tratamento de NH_4 do que nos outros tratamentos. O número de folíolos no final do experimento possuiu diferenças em relação ao número de folhas, sendo maior no tratamento de NH_4NO_3 (36 folíolos), seguido pelos dois outros tratamentos com número igual de folíolos (NH_4 com 27 folíolos e NO_3 com 28 folíolos).

Figura 4: Estrutura etária dos folíolos e número médio de folíolos por planta para os três tratamentos. A linha sólida representa o número médio de folíolos por folha (o cotilédone é considerado como a 1ª folha) ■ Número médio de

folhas nascidas durante o experimento □ Número médio de folíolos presentes por planta durante o experimento.

1.6.4. Longevidade foliar e fases de desenvolvimento

A longevidade dos folíolos foi maior nas folhas de baixa ordem, independente do tratamento. Os folíolos do tratamento de NH_4 sempre tiveram menor longevidade do que os outros tratamentos quando comparados na mesma ordem foliar.

Neste trabalho a longevidade dos folíolos foi dividida em três fases ou estádios. A fase de expansão, que começa com a emergência da folha e termina com o final da expansão, a fase de maturidade, que começa no final da expansão e termina com o início da senescência e a fase de senescência, que começa no início da senescência e termina com a morte do folíolo. A mudança destas fases de desenvolvimento com a ordem foliar é mostrada na figura 5 (Neste caso os cotilédones foram retirados da análise). Independente do tratamento a fase de maturidade decresce com o aumento da ordem foliar. Este decréscimo é simultâneo com o aumento da fase de expansão (que aumenta de aproximadamente 10% para 40% da longevidade da folha) e a fase de senescência não é afetada, permanecendo praticamente constante com o aumento da ordem foliar. Quando comparadas na mesma ordem foliar, as folhas do tratamento de NH_4 sempre possuíam a fase de maturidade mais longa e a fase de senescência mais curta.

Figura 5: Mudanças no tempo proporcional de duração das fases de desenvolvimento.

1.6.5. Biomassa e frações de massa no final do experimento

No final do experimento as plantas foram coletadas, divididas em raiz, caule, folha e raques e cada um desses compartimentos foi seco até atingir massa constante. A biomassa total no final do experimento foi diferente nos três tratamentos. Esta foi maior e igual nos tratamentos de NH_4 e NO_3 e o dobro da biomassa do tratamento de NO_3 , que teve a menor biomassa ($H=16,4$ e $P<0,001$) conforme pode ser visualizado na Tabela 3. Em relação aos compartimentos, houve dois padrões, um o mesmo padrão visto na biomassa total, que aconteceu para a raiz ($H=13,10$ e $P=0,001$) e para as raques ($H=17,17$ e $P<0,001$). O outro padrão apareceu para a biomassa de caule ($H=20,17$ e $P<0,001$) e de folhas ($H=18,74$ e $P<0,001$) no qual o tratamento de

NH₄ apresentou os maiores valores, seguido pelo tratamento de NH₄NO₃ e por último o tratamento de NO₃.

Tabela 3: Quantidade de biomassa (g) total e de cada parte da planta presente no final do experimento. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=8 para todos os tratamentos.

	NH ₄	NH ₄ NO ₃	NO ₃
Total	19,3 $\pm$ 3,73 ^A	15,0 $\pm$ 4,99 ^A	6,7 $\pm$ 1,6 ^B
Raiz	13,0 $\pm$ 3,28 ^A	10,6 $\pm$ 4,17 ^A	4,9 $\pm$ 1,75 ^B
Caule	1,4 $\pm$ 0,20 ^A	0,9 $\pm$ 0,18 ^B	0,4 $\pm$ 0,06 ^C
Folha	4,0 $\pm$ 0,80 ^A	2,9 $\pm$ 0,27 ^B	1,3 $\pm$ 0,26 ^C
Raques	0,8 $\pm$ 0,20 ^A	0,6 $\pm$ 0,33 ^A	0,2 $\pm$ 0,03 ^B

Para verificar se houve um investimento diferencial em um destes compartimentos, estes foram expressos na forma de frações e não houve diferenças significativas entre estas, conforme pode ser visto na Tabela 4. Desta forma as plantas, independente da forma de nitrogênio recebida, investem ao redor de 70% de sua biomassa na raiz, 5 a 7% da sua biomassa no caule, 21% de sua biomassa em folhas e 4% de sua biomassa em raques. Pudemos verificar que esta espécie, durante esta fase de desenvolvimento, priorizou o investimento da biomassa em raízes e folhas (juntas somaram aproximadamente 90% da biomassa) em detrimento do suporte da parte aérea (raques e caules somados apresentaram aproximadamente 10% da biomassa). É interessante notar que o investimento no caule e nas raques foi igual.

Tabela 4: Proporção de biomassa presente nos compartimentos da planta expressa na forma de frações (g g^{-1}). Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=8 para todos os tratamentos.

	NH ₄	NH ₄ NO ₃	NO ₃
Fração raiz	0,66 $\pm$ 0,064 ^A	0,68 $\pm$ 0,084 ^A	0,70 $\pm$ 0,096 ^A
Fração caule	0,07 $\pm$ 0,016 ^A	0,06 $\pm$ 0,017 ^A	0,05 $\pm$ 0,018 ^A
Fração folha	0,21 $\pm$ 0,043 ^A	0,21 $\pm$ 0,059 ^A	0,21 $\pm$ 0,070 ^A
Fração raque	0,04 $\pm$ 0,020 ^A	0,04 $\pm$ 0,022 ^A	0,03 $\pm$ 0,009 ^A

1.6.5.Carboidratos

Os carboidratos não estruturais foram analisados por unidade de massa seca da folha ($\mu\text{g/mg MS}$) da seguinte forma: primeiro descrevemos a relação dos carboidratos com a posição das folhas e a fase de desenvolvimento destas dentro de cada tratamento, posteriormente comparamos esta mesma característica entre os tratamentos.

1.6.5.1 Tratamento de NO₃

A quantidade de glicose caiu de forma brusca da segunda para a terceira posição e permaneceu constante para as demais posições (H=25,03 e P= 0,001) como pode ser visto na Tabela 5. Infelizmente a pouca quantidade de folhas na nona posição nos impediu de testar se o aumento de glicose na última posição foi significativo. Quando a quantidade de glicose foi analisada em relação às fases fenológicas esta caiu conforme as fases avançaram, assim as folhas expandindo possuíam maior quantidade de glicose seguidas pelas folhas maduras e por último as folhas senescentes (H= 16,68 e P<0,001) como pode ser visto na Tabela 5.

Para a quantidade de frutose ocorreu o mesmo padrão descrito acima, sendo o valor do teste para a posição H=17,49 e P= 0,014 e para as fases fenológicas H= 10,66 e P= 0,005, como pode ser visto nas Tabelas 5 e 6.

A quantidade de sacarose não variou ao longo da copa ou durante o desenvolvimento da folha, como evidenciado pela ausência de diferença em relação às posições ($H=13,38$ e $P=0,063$) ou às fases fenológicas ($H=3,04$ e $P=0,219$) como pode ser visto nas Tabelas 5 e 6.

A quantidade de amido triplicou da segunda para a terceira posição e permaneceu constante para as demais posições ($H= 23,13$ e $P=0,002$) como pode ser visto na Tabela 5. Infelizmente a pouca quantidade de folhas na nona posição nos impediu de testar se a queda do amido na última posição foi significativa. Quando a quantidade de amido foi analisada em relação às fases fenológicas, esta aumentou das folhas expandindo para as folhas maduras e permaneceu constante durante a senescência ($H= 16,32$ e $P< 0,001$) como pode ser visto na Tabela 5.

Tabela 5: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes nas folhas do tratamento de NO_3 , distribuídos de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. $N=8$ para todas as posições, com exceção da oitava, onde $N=6$, e da nona onde $N=1$. Devido a este fato a nona posição foi retirada desta análise. Os números entre parênteses representam a partição dos carboidratos não estruturais para as posições.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2ª Posição	$36,9 \pm 24,79^A$ (38,9)	$10,1 \pm 6,32^A$ (9,9)	$11,7 \pm 6,71^A$ (7,9)	$66,1 \pm 62,60^A$ (43,3)
3ª Posição	$23,0 \pm 7,22^B$ (9,8)	$6,5 \pm 2,18^B$ (2,7)	$18,8 \pm 2,31^A$ (7,6)	$211,8 \pm 70,90^B$ (80,3)
4ª Posição	$19,9 \pm 12,23^B$ (8,4)	$5,8 \pm 3,57^B$ (2,6)	$19,1 \pm 4,23^A$ (8,4)	$202,1 \pm 80,10^B$ (80,6)
5ª Posição	$16,2 \pm 6,78^B$ (9,5)	$5,0 \pm 2,38^B$ (2,8)	$16,0 \pm 2,97^A$ (9,0)	$168,4 \pm 80,30^B$ (78,8)
6ª Posição	$12,5 \pm 4,46^B$ (8,4)	$3,8 \pm 1,06^B$ (2,0)	$13,7 \pm 1,76^A$ (7,6)	$160,6 \pm 39,50^B$ (83,07)
7ª Posição	$12,0 \pm 4,25^B$ (6,2)	$3,9 \pm 1,09^B$ (2,0)	$14,3 \pm 1,70^A$ (7,3)	$157,7 \pm 28,50^B$ (84,4)
8ª Posição	$14,5 \pm 3,57^B$ (9,9)	$10,7 \pm 0,88^B$ (3,7)	$23,7 \pm 2,76^A$ (16,1)	$115,5 \pm 40,80^B$ (70,3)
9ª Posição	33,9	10,74	0,69	81,38

Tabela 6: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes nas folhas do tratamento de NO_3 , distribuídos de acordo com a fase fenológica. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. $N=7$ para a fase de expansão e para a fase de maturidade e $N=41$ para a fase de senescência. Os números entre parênteses representam a partição dos carboidratos não estruturais para as fases fenológicas

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
Expansão	40,2 $\pm$ 24,82 ^A	11,1 $\pm$ 6,17 ^A	13,3 $\pm$ 19,91 ^A	49,9 $\pm$ 42,9 ^A
Maturidade	22,1 $\pm$ 7,90 ^B	6,4 $\pm$ 2,56 ^B	17,0 $\pm$ 9,94 ^A	208,8 $\pm$ 75,80 ^B
Senescência	15,9 $\pm$ 7,92 ^C	4,9 $\pm$ 3,57 ^C	16,5 $\pm$ 8,31 ^A	163,7 $\pm$ 62,05 ^B

1.6.5.2. Tratamento de NH_4NO_3

A quantidade de glicose permaneceu no valor máximo para a segunda e terceiras posições, diminuiu cerca de 1,5 vezes para a quarta posição e permaneceu constante para as demais posições ($H=18,65$ e $P= 0,005$) como pode ser visto na Tabela 7. Quando a quantidade de glicose foi analisada em relação às fases fenológicas esta caiu conforme as fases avançaram, assim as folhas expandindo possuíam maior quantidade de glicose, esta quantidade caiu pela metade para as folhas maduras e sofreu uma pequena queda nas folhas senescentes ($H= 8,01$ e $P=0,046$) como pode ser visto na Tabela 7.

A quantidade de frutose caiu cerca de 1,5 vezes da segunda para a terceira posição e permaneceu constante para as demais posições ($H=17,58$ e $P= 0,014$) como pode ser visto na Tabela 7. Quando a quantidade de frutose foi analisada em relação às fases fenológicas, esta caiu pela metade das folhas expandindo para as folhas maduras e permaneceu constante para as folhas senescentes ($H=4,99$ e $P=0,173$) como pode ser visto na Tabela 7.

A quantidade de sacarose aumentou cerca de 5,5 vezes da segunda para a terceira posição, sofreu um pequeno aumento da terceira para a quarta posição e voltou para os valores da terceira posição para as demais posições ($H=23,63$ e $P=0,001$) como pode ser visto na Tabela 7. Quando a quantidade de sacarose foi analisada em relação às fases fenológicas esta dobrou das folhas

expandindo para as folhas maduras e permaneceu neste mesmo valor para as folhas senescentes ($H=9,75$ e $P=0,021$) como pode ser visto na Tabela 7.

A quantidade de amido, diferente de todos os outros açúcares, não apresentou diferenças entre as posições ($H= 6,36$ e $P=0,384$) ou entre as fases fenológicas ($H=1,25$ e $P=0,741$) como pode ser visto nas Tabelas 7 e 8.

Tabela 7: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presente nas folhas do tratamento de NH_4NO_3 , distribuída de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. $N=8$ para todas as posições, com exceção da segunda, onde $N=4$ e da sétima onde $N=7$. Os números entre parênteses representam a partição dos carboidratos não estruturais para as posições.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2ª Posição	$41,3 \pm 29,10^A$ (40,0)	$12,8 \pm 9,60^A$ (12,1)	$3,76 \pm 4,45^A$ (3,1)	$38,4 \pm 14,36^A$ (44,7)
3ª Posição	$37,6 \pm 29,60^A$ (24,8)	$8,2 \pm 5,05^B$ (5,9)	$20,6 \pm 6,84^B$ (18,3)	$77,1 \pm 41,30^A$ (50,8)
4ª Posição	$23,5 \pm 7,40^B$ (19,1)	$8,4 \pm 3,76^B$ (7,0)	$30,1 \pm 8,18^C$ (24,5)	$55,81 \pm 25,52^A$ (49,3)
5ª Posição	$17,8 \pm 4,79^B$ (20,1)	$7,4 \pm 3,40^B$ (7,8)	$14,8 \pm 6,22^B$ (17,5)	$50,7 \pm 8,83^A$ (54,5) ^j
6ª Posição	$16,7 \pm 6,82^B$ (16,0)	$4,7 \pm 1,95^B$ (4,3)	$17,5 \pm 8,03^B$ (17,9)	$57,1 \pm 20,64^A$ (61,8)
7ª Posição	$12,1 \pm 1,57^B$ (15,6)	$3,3 \pm 0,87^B$ (3,9)	$13,6 \pm 4,12^B$ (18,6)	$46,5 \pm 9,64^A$ (61,9)
8ª Posição	$14,19 \pm 5,77^B$ (15,3)	$4,29 \pm 2,71^B$ (5,4)	$22,0 \pm 10,5^B$ (19,2)	$14,2 \pm 40,10^A$ (60,2)

Tabela 8: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presente nas folhas do tratamento de NO_3 , distribuída de acordo com a fase fenológica. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. $N=8$ para a fase de

expansão, N=7 para a fase de maturidade e N=33 para a fase de senescência. Os números entre parênteses representam a partição dos carboidratos não estruturais para as fases fenológicas.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
Expansão	47,3 ± 31,5 ^A	11,8 ± 7,69 ^A	10,3 ± 9,25 ^A	69,9 ± 49,30 ^A
Maturidade	19,5 ± 3,99 ^B	5,4 ± 0,69 ^B	23,13 ± 4,01 ^B	50,8 ± 13,00 ^A
Senescência	16,8 ± 6,98 ^C	5,5 ± 3,18 ^B	20,3 ± 9,74 ^B	58,29 ± 26,06 ^A

1.6.5.3. Tratamento de NH₄

A quantidade de glicose caiu pela metade da segunda para a terceira posição e permaneceu constante para as demais posições (H=23,16 e P= 0,001) como pode ser visto na Tabela 9. Quando a quantidade de glicose foi analisada em relação às fases fenológicas esta caiu conforme as fases avançaram, assim houve uma diminuição pela metade das folhas expandindo para as folhas maduras e uma pequena queda para as folhas senescentes (H= 17,89 P<0,001) como pode ser visto na Tabela 9.

A quantidade de frutose não apresentou diferenças em relação à posição das folhas (H=6,22 e P= 0,399) como pode ser visto na Tabela 9. Também não houve diferenças quando analisadas nas fases fenológicas (H=7,50 e P=0,057) como pode ser visto na Tabela 9.

A quantidade de sacarose aumentou cerca de 7 vezes da segunda para a terceira posição e permaneceu constante para as demais posições (H=15,64 e P=0,016.) como pode ser visto na Tabela 9. Porém, quando as plantas deste tratamento foram analisadas de acordo com as fases fenológicas, esta diferença desapareceu (H=5, 55 e P=0,136) como pode ser visto na Tabela 9.

A quantidade de amido aumentou cerca de 2 vezes da segunda para a terceira posição, aumentou cerca de 18% para a quarta posição e diminuiu para quantidades próximas da terceira posição para as demais (H=17,71 P= 0,007) como pode ser visto na Tabela 9. Quando analisadas pelas fases fenológicas a quantidade de amido dobrou das folhas expandindo para as folhas maduras e diminuiu cerca de 5% das folhas maduras para as folhas senescentes (H=16,32 e P=0,001), como pode ser visto na Tabela 9.

Tabela 9: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes nas folhas do tratamento de NH_4 , distribuídos de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. $N=8$ para todas as posições, com exceção da segunda, onde $N=5$, da sétima onde $N=4$ e da oitava onde $N=2$. Os números entre parênteses representam a partição dos carboidratos não estruturais para as posições.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2ª Posição	$54,8 \pm 10,87^A$ (40,1)	$14,0 \pm 6,45^A$ (9,4)	$2,9 \pm 3,45^A$ (2,1)	$79,8 \pm 60,00^A$ (48,4)
3ª Posição	$34,4 \pm 18,61^B$ (15,7)	$8,0 \pm 4,05^A$ (3,7)	$19,5 \pm 11,38^B$ (8,5)	$171,2 \pm 54,10^B$ (72,1)
4ª Posição	$25,90 \pm 10,52^B$ (9,6)	$10,2 \pm 8,03^A$ (3,9)	$22,5 \pm 19,55^B$ (7,9)	$210,3 \pm 29,50^C$ (78,6)
5ª Posição	$23,2 \pm 7,37^B$ (10,2)	$9,4 \pm 3,15^A$ (4,1)	$27,6 \pm 12,52^B$ (11,9)	$179,0 \pm 50,40^B$ (73,8)
6ª Posição	$18,7 \pm 6,35^B$ (11,3)	$10,4 \pm 7,92^A$ (6,1)	$12,6 \pm 10,88^B$ (6,1)	$140,1 \pm 59,80^B$ (76,0)
7ª Posição	$15,9 \pm 2,65^B$ (7,9)	$8,8 \pm 6,66^A$ (5,2)	$14,29 \pm 9,97^B$ (7,0)	$154,9 \pm 11,34^B$ (79,9)
8ª Posição	$17,7 \pm 1,43^B$ (14,4)	$5,1 \pm 0,66^A$ (4,1)	$28,9 \pm 7,01^B$ (24,6)	$73,5 \pm 36,80^B$ (56,8)

Tabela 10: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes nas folhas do tratamento de NH_4 , distribuídos de acordo com a fase fenológica. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. $N=7$ para a fase de expansão, $N=10$ para a fase de maturidade e $N=22$ para a fase de senescência. Os números entre parênteses representam a partição dos carboidratos não estruturais para as fases fenológicas.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
Expansão	$52,9 \pm 18,17^A$	$13,6 \pm 5,86^A$	$7,16 \pm 9,12^A$	$85,4 \pm 50,00^A$
Maturidade	$27,25 \pm 7,99^B$	$6,5 \pm 2,17^A$	$20,4 \pm 11,31^A$	$187,0 \pm 50,90^B$
Senescência	$21,47 \pm 9,00^C$	$10,3 \pm 6,44^A$	$20,8 \pm 15,79^A$	$178,97 \pm 20,16^C$

1.6.5.4. Análise entre tratamentos

Comparando os três tratamentos em relação à quantidade de glicose presente nas diferentes posições, não houve diferença entre os tratamentos para nenhuma posição, como pode ser visto na Tabela 11.

Tabela 11: Quantidade relativa de glicose ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presente nas folhas dos diferentes tratamentos, distribuídos de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. Os números entre parênteses representam a partição dos carboidratos não estruturais para as posições.

	NH ₄	NH ₄ NO ₃	NO ₃
2ª Posição	54,8 $\pm$ 10,87 ^A	23,8 $\pm$ 15,71 ^A	36,9 $\pm$ 24,79 ^A
3ª Posição	34,4 $\pm$ 18,61 ^A	24,6 $\pm$ 13,10 ^A	23,0 $\pm$ 7,22 ^A
4ª Posição	25,90 $\pm$ 10,52 ^A	12,40 $\pm$ 4,99 ^A	19,9 $\pm$ 12,23 ^A
5ª Posição	23,2 $\pm$ 7,37 ^A	8,5 $\pm$ 5,75 ^A	16,2 $\pm$ 6,78 ^A
6ª Posição	18,7 $\pm$ 6,35 ^A	4,1 $\pm$ 1,33 ^A	12,5 $\pm$ 4,46 ^A
7ª Posição	15,9 $\pm$ 2,65 ^A	2,6 $\pm$ 1,57 ^A	12,0 $\pm$ 4,25 ^A
8ª Posição	17,7 $\pm$ 1,43 ^A	5,5 $\pm$ 9,64 ^A	14,5 $\pm$ 3,57 ^A
9ª Posição			33,9

Para a quantidade de frutose, por outro lado, houve diferença na quinta posição ($H = 8,35$ e $P = 0,015$). Neste caso, o tratamento de NO₃ apresentou os menores valores, sendo este valor aproximadamente 40% menor do que nos outros dois tratamentos, que apresentaram valores iguais. Para a sexta e sétima posições esta diferença mudou ($H = 6,91$ e $P = 0,032$; $H = 6,78$ e $P = 0,034$, respectivamente). Neste caso, o tratamento de NH₄ apresentou valores 2,5 vezes maiores do que os outros dois tratamentos. Para as demais posições não houve diferença entre os tratamentos, como pode ser visto na Tabela 12.

Tabela 12: Quantidade relativa de frutose ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presente nas folhas dos diferentes tratamentos, distribuída de acordo com a posição destas folhas

na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$.

	NH ₄	NH ₄ NO ₃	NO ₃
2ª Posição	14,0 $\pm$ 6,45 ^A	12,8 $\pm$ 9,60 ^A	10,1 $\pm$ 6,32 ^A
3ª Posição	8,0 $\pm$ 4,05 ^A	8,2 $\pm$ 5,05 ^A	6,5 $\pm$ 2,18 ^A
4ª Posição	10,2 $\pm$ 8,03 ^A	8,4 $\pm$ 3,76 ^A	5,8 $\pm$ 3,57 ^A
5ª Posição	9,4 $\pm$ 3,15 ^A	7,4 $\pm$ 3,40 ^A	5,0 $\pm$ 2,38 ^B
6ª Posição	10,4 $\pm$ 7,92 ^A	4,7 $\pm$ 1,95 ^B	3,8 $\pm$ 1,06 ^B
7ª Posição	8,8 $\pm$ 6,66 ^A	3,3 $\pm$ 0,87 ^B	3,9 $\pm$ 1,09 ^B
8ª Posição	5,1 $\pm$ 0,66 ^A	4,29 $\pm$ 2,71 ^A	10,7 $\pm$ 0,88 ^A
9ª Posição			10,74

Para a quantidade de sacarose houve diferença na quinta posição (H= 7,39 e P= 0,025). Neste caso, o tratamento de NH₄ apresentou valores 44% maiores do que os outros dois tratamentos, que apresentaram valores iguais. Para as demais posições, não houve diferenças significativas entre os tratamentos, como pode ser visto na Tabela 13.

Tabela 13: Quantidade relativa de sacarose ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presente nas folhas dos diferentes tratamentos, distribuídos de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$.

	NH ₄	NH ₄ NO ₃	NO ₃
2ª Posição	2,9 $\pm$ 3,45 ^A	3,76 $\pm$ 4,45 ^A	11,7 $\pm$ 6,71 ^A
3ª Posição	19,5 $\pm$ 11,38 ^A	20,6 $\pm$ 6,84 ^A	18,8 $\pm$ 2,31 ^A
4ª Posição	22,5 $\pm$ 19,55 ^A	30,1 $\pm$ 8,18 ^A	19,1 $\pm$ 4,23 ^A
5ª Posição	27,6 $\pm$ 12,52 ^A	14,8 $\pm$ 6,22 ^B	16,0 $\pm$ 2,97 ^B
6ª Posição	12,6 $\pm$ 10,88 ^A	17,5 $\pm$ 8,03 ^A	13,7 $\pm$ 1,76 ^A
7ª Posição	14,29 $\pm$ 9,97 ^A	13,6 $\pm$ 4,12 ^A	14,3 $\pm$ 1,70 ^A
8ª Posição	28,9 $\pm$ 7,01 ^A	22,0 $\pm$ 10,5 ^A	23,7 $\pm$ 2,76 ^A
9ª Posição			0,69

Para a quantidade de amido não houve diferença nas posições dois e oito. Para as demais posições houve diferenças significativas. Para a terceira e sexta posições, foi observado o mesmo padrão de diferença ($H=12,40$ e $P=0,002$; $H=13,27$ e $P=0,001$, respectivamente) no qual foi observado a maior concentração deste açúcar para o NO_3 , seguido pelo tratamento NH_4 (sendo aproximadamente 18% menor) e por último o tratamento de NH_4NO_3 (sendo aproximadamente 63% menor do que o tratamento de NO_3 e 54% menor do que o tratamento de NH_4). Para as posições quatro e sete ($H= 13,07$ e $P= 0,001$; $H= 12,65$ e $P=0,002$, respectivamente) este padrão se modificou. Neste caso, o tratamento de NH_4NO_3 apresentou os menores valores (aproximadamente 73% menor) e os outros dois tratamentos apresentaram valores iguais. Para a quinta posição ($H= 10,95$ e $P= 0,004$) o tratamento de NH_4 apresentou o maior valor, seguido pelo tratamento de NO_3 (sendo aproximadamente 6% menor) e por último o tratamento de NH_4NO_3 (sendo aproximadamente 69% menor do que o tratamento de NO_3 e aproximadamente 71% menor do que o tratamento de NH_4) como pode ser visto na Tabela 14.

Tabela 14: Quantidade relativa de amido ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presente nas folhas dos diferentes tratamentos, distribuída de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. A nona posição foi retirada da análise.

	NH_4	NH_4NO_3	NO_3
2ª Posição	$79,8 \pm 60,00^A$	$38,4 \pm 14,36^A$	$66,1 \pm 62,60^A$
3ª Posição	$171,2 \pm 54,10^A$	$77,1 \pm 41,30^B$	$211,8 \pm 70,90^C$
4ª Posição	$210,3 \pm 29,50^A$	$55,81 \pm 25,52^B$	$202,1 \pm 80,10^A$
5ª Posição	$179,0 \pm 50,40^A$	$50,7 \pm 8,83^B$	$168,4 \pm 80,30^C$
6ª Posição	$140,1 \pm 59,80^A$	$57,1 \pm 20,64^B$	$160,6 \pm 39,50^C$
7ª Posição	$154,9 \pm 11,34^A$	$46,5 \pm 9,64^B$	$157,7 \pm 28,50^A$
8ª Posição	$73,5 \pm 36,80^A$	$14,2 \pm 40,10^A$	$115,5 \pm 40,80^A$
9ª Posição			81,38

Quando comparados em relação às folhas expandindo, todos os açúcares não apresentaram diferenças entre os tratamentos, como pode ser visto nas Tabelas 15 a 18. Por outro lado, quando comparamos as folhas maduras, apenas a quantidade de amido apresentou diferença entre os tratamentos ($H=13,63$ e $P=0,001$). Neste caso, o tratamento de NH_4NO_3 apresentou a menor quantidade de amido (aproximadamente 75% menor) e os outros dois tratamentos não apresentaram diferenças entre si, como pode ser visto nas Tabelas 15 a 18. As folhas senescentes apresentaram uma diferença na concentração de glicose ($H=10,55$ e $P=0,005$). Neste caso, o tratamento de NH_4 apresentou os maiores valores (aproximadamente 23% maior), do que os outros dois tratamentos, como pode ser visto nas Tabelas 15 a 18.

Para a frutose também houve diferença entre os tratamentos ($H=16,88$ e $P<0,001$). Neste caso, o tratamento de NH_4 apresentou a maior concentração, seguido pelo tratamento de NH_4NO_3 (aproximadamente 46% menor) e apresentando os menores valores, o tratamento de NO_3 (aproximadamente 52% menor que o tratamento de NH_4 e aproximadamente 10% menor que o tratamento de NH_4NO_3) como pode ser visto nas Tabelas 15 a 18.

Para a sacarose não houve diferença entre os tratamentos. Para o amido houve diferença entre os tratamentos ($H=49,82$ e $P<0,001$). Neste caso, o tratamento de NH_4NO_3 apresentou os menores valores (aproximadamente 66% menor) e os outros dois tratamentos foram iguais como pode ser visto nas Tabelas 15 a 18.

Tabela 15: Quantidade relativa de glicose ($\mu\text{g}/\text{mg MS}$) presente nas folhas dos diferentes tratamentos, distribuídos de acordo com a fase fenológica. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha=5\%$.

	NH_4	NH_4NO_3	NO_3
Expansão	$52,9 \pm 18,17^A$	$47,3 \pm 31,5^A$	$40,2 \pm 24,82^A$
Maturidade	$27,25 \pm 7,99^A$	$19,5 \pm 3,99^A$	$22,1 \pm 7,90^A$
Senescência	$21,47 \pm 9,00^A$	$16,8 \pm 6,98^B$	$15,9 \pm 7,92^B$

Tabela 16: Quantidade relativa de frutose ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presente nas folhas dos diferentes tratamentos, distribuídos de acordo com a fase fenológica. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$.

	NH_4	NH_4NO_3	NO_3
Expansão	$13,6 \pm 5,86^A$	$11,8 \pm 7,69^A$	$11,1 \pm 6,17^A$
Maturidade	$6,5 \pm 2,17^A$	$5,4 \pm 0,69^A$	$6,4 \pm 2,56^A$
Senescência	$10,3 \pm 6,44^A$	$5,5 \pm 3,18^B$	$4,9 \pm 3,57^C$

Tabela 17: Quantidade relativa de sacarose ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presente nas folhas dos diferentes tratamentos, distribuídos de acordo com a fase fenológica. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$.

	NH_4	NH_4NO_3	NO_3
Expansão	$7,16 \pm 9,12^A$	$10,3 \pm 9,25^A$	$13,3 \pm 19,91^A$
Maturidade	$20,4 \pm 11,31^A$	$23,13 \pm 4,01^A$	$17,0 \pm 9,94^A$
Senescência	$20,8 \pm 15,79^A$	$20,3 \pm 9,74^A$	$16,5 \pm 8,31^A$

Tabela 18: Quantidade relativa de amido ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presente nas folhas dos diferentes tratamentos, distribuídos de acordo com a fase fenológica. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$.

	NH_4	NH_4NO_3	NO_3
Expansão	$85,4 \pm 50,00^A$	$69,9 \pm 49,30^A$	$49,9 \pm 42,9^A$
Maturidade	$187,0 \pm 50,90^A$	$50,8 \pm 13,00^B$	$208,8 \pm 75,80^A$
Senescência	$180,0 \pm 20,16^A$	$58,3 \pm 26,06^B$	$163,7 \pm 62,05^A$

1.7.Discussão

Para organizar e facilitar a discussão foi criado o modelo conceitual a seguir. Ele foi feito a partir dos principais resultados deste capítulo, junto com as informações pertinentes da literatura que serviram como base teórica para a interpretação dos resultados.

Figura 6: Fluxograma representando os principais resultados deste capítulo. As diferentes fontes de nitrogênio não possuíram efeito na taxa de iniciação e sim na mortalidade, o que levou à diminuição da longevidade das folhas e no número de folhas da copa. Podemos presumir que o ganho de carbono foi maior do que as perdas e desta forma para o tratamento de NH_4 , levou ao acúmulo de hexoses na fase de senescência. Este acúmulo de hexoses foi o

provável mecanismo fisiológico responsável pelo aumento da mortalidade. Este aumento na mortalidade fez com a duração da fase de senescência diminuísse, desta forma mudando o desenvolvimento da folha. As perdas associadas aos carboidratos não estruturais neste modelo representam qualquer processo que diminua a quantidade de carboidratos na folha, quer seja pela respiração, ou devido à exportação destes açúcares da folha. As perdas associadas à biomassa total representam tudo o que foi respirado pela planta toda ou que saiu da planta, quer seja por exudação, liberação de compostos voláteis ou partes que morreram da planta.

De acordo com KIKUZAWA, 1995 o ganho de carbono por uma planta é uma função do arranjo espacial de suas folhas e do arranjo destas no tempo. Desta forma, o arranjo das folhas no espaço e no tempo deve ser o elemento central da estratégia de ganho de carbono nas plantas. Desta forma as coletas não destrutivas realizadas ao longo do experimento serviram para a caracterização dos padrões temporais que ocorreram na copa. O padrão de iniciação foliar é sucessivo, sendo que a expansão de uma folha é dependente do término da expansão da folha anterior.

O tratamento modificou o número de folhas (que é um dos fatores da estrutura vertical da copa) e a longevidade das folhas através de sua influência na taxa de mortalidade, uma vez que não influenciou a taxa de iniciação foliar. Como a mortalidade foi maior no tratamento de NH_4 este apresentou o menor número de folhas e estas, obviamente, viveram menos tempo. Além da mudança na longevidade o tratamento também influenciou o desenvolvimento destas folhas, e as folhas do tratamento de NH_4 que ficaram a maior parte de seu tempo de vida na fase de maturidade.

A área de cada folha (o outro fator determinante da estrutura vertical da copa) foi sempre menor no tratamento de NO_3 do que nos outros dois tratamentos. Esta menor área foliar deveu-se à menor área de seus folíolos e não por possuir menos folíolos. Na folha de oitava ordem o número de folíolos também foi um fator determinante da menor área desta folha.

Quando as folhas são analisadas em função de sua posição na copa estamos observando a sua estrutura vertical na copa, e quando analisadas em relação às

fases fenológicas estamos observando sua estrutura temporal. Os carboidratos não estruturais presentes nas folhas em $\mu\text{g}/\text{mg}$ MS resultam da diferença entre o que foi produzido pela fotossíntese (ganho de carbono) e o que foi consumido e exportado por ela. Desta forma, esses carboidratos representam a produtividade intrínseca de qualquer folha.

Independente do tratamento a quantidade de glicose e de frutose (com exceção da frutose do tratamento de NH_4) apresentaram maiores valores na segunda posição em relação à terceira posição e para as demais posições a concentração foi igual à terceira posição. Por outro lado, o amido apresentou um padrão inverso, no qual a segunda posição apresentou menores valores em relação à terceira posição e para as demais posições a concentração foi igual à terceira posição (com exceção do tratamento de NH_4NO_3). A sacarose apresentou o padrão próximo do amido para os tratamentos de NH_4 e NH_4NO_3 e o tratamento de NO_3 não apresentou diferenças entre as posições.

A maior quantidade de hexose (glicose mais frutose) e menor quantidade de amido e sacarose é o padrão esperado para as folhas dreno, uma vez que nestas folhas espera-se alta atividade das enzimas que hidrolizam sacarose em glicose e frutose (HARN *et al*, 1993; ARAYA *et al*, 2006) porém, quem realizou perfis verticais de açúcares, como o realizado no presente trabalho, verificou que a quantidade destes açúcares é menor nas folhas dreno. (WINGLER *et al*, 1998 e COWAN *et al* 2005). Por outro lado, a menor quantidade de hexoses e maiores quantidades de amido e sacarose é o padrão esperado para as folhas fonte. Portanto, podemos concluir que a variação espacial do metabolismo de carboidrato ocorre entre as folhas dreno (nas posições superiores da copa) e as folhas fonte (nas posições intermediárias e inferiores da copa).

O tratamento não apresentou diferenças para a glicose em relação à posição. Para a frutose o tratamento apresentou diferenças para a parte inferior da copa (com exceção da oitava posição). Na quinta posição houve a separação do tratamento de NO_3 , que apresentou os menores valores. Para a sexta e sétima posições o tratamento de NH_4 apresentou os maiores valores e os outros dois tratamentos não se separaram. Para a sacarose a diferença ocorreu apenas na quinta posição, na qual o tratamento de NH_4 apresentou os maiores

valores e os outros tratamentos não se separaram. Para o amido o tratamento possuiu efeito na parte intermediária da copa (ou seja, não apresentou diferença para a segunda e para a última folha). Para as terceira e sexta posições os três tratamentos se separaram, sendo que a maior concentração deste açúcar ocorreu no tratamento de NO_3 seguido pelo tratamento de NH_4 e, por último, o tratamento de NH_4NO_3 . Para a quarta e sétima posições os tratamentos de NO_3 e NH_4 apresentaram os maiores valores, e ambos foram maiores do que o outro tratamento. Para a quinta posição os três tratamentos se separaram, porém neste caso, a maior concentração ocorreu no tratamento de NH_4 , depois o NO_3 e, por último, NH_4NO_3 .

Desta forma podemos concluir que as alterações na copa ocorreram em sua parte intermediária da copa.

Para as fases fenológicas, independente do tratamento, a glicose diminuiu conforme estas avançaram, ou seja, as folhas expandindo apresentaram maiores concentrações do que as folhas maduras, e estas, por sua vez, concentrações maiores do que as senescentes. Este padrão não está totalmente de acordo com o apresentado na literatura, no qual a glicose diminui das folhas expandindo para as folhas maduras (em concordância com os dados apresentados), porém na literatura as folhas senescentes apresentam maior concentração de glicose do que as folhas maduras. (ONO *et al*, 2001; WINGLER *et al*, 2006; POURTAU *et al*, 2006; ARAYA *et al*, 2006). A frutose, de modo geral, apresentou o mesmo padrão, com exceção do tratamento de NH_4NO_3 no qual as folhas maduras e senescentes apresentaram a mesma concentração deste açúcar. Este padrão é o mesmo do encontrado por HARN *et al* 1993 para as folhas expandindo e maduras, uma vez que neste trabalho as folhas senescentes não foram observadas. Por outro lado, POURTAU *et al*, 2006 verificou que a quantidade de frutose aumenta nas folhas senescentes em relação às folhas maduras.

As diferenças do presente trabalho (no qual as folhas senescentes apresentaram menos hexoses do que as folhas maduras) para a literatura podem ser explicadas pela metodologia utilizada na literatura citada, na qual folhas de mesma posição são coletadas ao longo do tempo, e portanto, a

caracterização da senescência é melhor realizada. Por outro lado, no presente trabalho realizamos uma coleta apenas no final do experimento e como visto as folhas apresentaram uma rápida senescência, e por isso as folhas que apresentariam altas taxas de glicose provavelmente já haviam caído.

Para a sacarose de uma forma geral, não houve diferenças entre as fases, com exceção do tratamento de NH_4NO_3 que será discutido posteriormente. Na literatura, existem dois padrões para a quantidade de sacarose ao longo do desenvolvimento, o padrão visto por HARN *et al* (1993), apresentou diferenças entre as folhas expandindo e as folhas maduras no qual a sacarose diminuiu e aumentou novamente para as folhas senescentes. Por outro lado, ARAYA *et al*, 2006, não encontrou diferenças significativas ao longo do desenvolvimento da folha. O amido, por sua vez, apresentou os menores valores nas folhas em expansão, e este aumentou para as folhas maduras (com exceção do tratamento de NH_4NO_3). Para as demais fases houve diferenças que serão discutidas abaixo. ARAYA *et al*, 2006, também verificou que o amido aumentou das folhas expandindo para as folhas maduras e este declinou para as folhas senescentes.

O tratamento apresentou diferenças relacionadas com as fases fenológicas sendo estas mais marcantes para as folhas senescentes. Para as folhas em expansão não houve efeito do tratamento para nenhum dos carboidratos. Para as folhas maduras ocorreu diferença apenas na quantidade de amido que foi maior e igual nos tratamentos de NH_4 e NO_3 em relação ao outro tratamento. Para as folhas senescentes houve diferenças em todos os açúcares com exceção da sacarose.

Para a glicose o tratamento de NH_4 apresentou os maiores valores e os outros dois tratamentos valores iguais entre si. Para a frutose ocorreu diferença entre os tratamentos, sendo que neste caso os três tratamentos se separaram. O tratamento de NH_4 novamente apresentou os maiores valores, seguido pelo tratamento de NH_4NO_3 e por último, o tratamento de NO_3 . O amido foi diferente também para os três tratamentos, só que neste caso os tratamentos de NH_4 e NO_3 apresentaram valores iguais entre si e maiores do que o outro tratamento.

Como visto na literatura (ONO *et al*, 2001; WINGLER *et al*, 2006) a senescência é estimulada pelo aumento das hexoses, sendo que esta sinalização ocorre devido à hexoquinase I (MOORE *et al* 2003). Desta forma, a maior quantidade de hexoses apresentada pelo tratamento de NH_4 pode ser o mecanismo que diminui a longevidade deste tratamento em relação aos outros dois. Apesar deste mecanismo não explicar a longevidade dentro de cada tratamento, uma vez que como dito anteriormente, a quantidade de hexoses diminuiu ao longo do desenvolvimento. Neste caso, a melhor explicação seria que a sensibilidade da folha às hexoses aumenta com o seu desenvolvimento, como foi demonstrado por WINGLER *et al*, 1998. Neste trabalho folhas jovens, maduras e senescentes foram cortadas da planta e glicose foi aplicada a estas folhas. (50mM de glicose). As folhas maduras e senescentes apresentaram alto grau de amarelamento (indicativo do avanço da senescência) enquanto as folhas jovens não apresentaram estes efeitos, o que levou estes autores a formularem a hipótese de que a sensibilidade aos açúcares aumenta com o desenvolvimento.

ARAYA *et al* 2006, chegaram ao mesmo resultado porém neste trabalho não foram destacadas as folhas, e o aumento na quantidade de carboidratos foi obtido adicionando-se vinte milimolar de sacarose à solução nutritiva.

A quantidade de carboidratos não estruturais quando analisada em mg folha^{-1} nos dá uma idéia da produção da folha toda, uma vez que esta é obtida multiplicando-se a quantidade dos carboidratos não estruturais da folha (expressa em $\mu\text{g/mg MS}$) pela massa presente nesta.

Independente do tratamento a terceira folha sempre apresentou os maiores valores de glicose, isto ocorreu porque apesar da terceira folha possuir menor concentração deste açúcar, apresenta maior massa. Para a frutose, de uma forma geral, o mesmo padrão é observado. O tratamento teve efeito principalmente na parte intermediária da copa, uma vez que a frutose, sacarose e amido, apresentaram aí as suas diferenças. Na segunda posição a quantidade de glicose foi maior e igual para os tratamentos de NH_4 e NH_4NO_3 e o tratamento de NO_3 apresentou os menores valores. Como as folhas desta posição são na sua maioria dreno, estas diferenças representam a força do

dreno da copa e podemos ver que esta diferença segue o mesmo padrão da diferença na área foliar e aproximadamente a apresentada pela massa de folhas. Para as posições três, quatro, cinco e seis, o tratamento de NH_4 apresentou os maiores valores, seguido pelo tratamento de NH_4NO_3 e por último o tratamento de NO_3 . Estas folhas representam as folhas fonte e, portanto, as maiores produtoras de açúcares.

Quando analisadas em relação às fases fenológicas, o tratamento desta vez apresentou diferenças em todas as fases. Para as folhas expandindo ocorreu o mesmo padrão para a glicose, frutose e amido, no qual o tratamento de NH_4 e o de NH_4NO_3 apresentaram os maiores valores e valores iguais entre si. E o tratamento de NO_3 os menores valores. A sacarose não apresentou diferenças. Para as folhas maduras houve o mesmo padrão para as hexoses na qual o tratamento de NH_4 apresentou os maiores valores seguido pelo tratamento de NH_4NO_3 e, por último o tratamento de NO_3 .

A sacarose não apresentou diferenças entre o tratamento de NH_4 e NH_4NO_3 , porém estes tratamentos foram maiores do que o tratamento de NO_3 .

O padrão do amido modificou-se. Neste caso o tratamento de NH_4 apresentou os maiores valores, seguido pelo tratamento de NO_3 e por último o tratamento de NH_4NO_3 . As folhas senescentes apresentaram o mesmo padrão das folhas maduras para as hexoses e o amido e a sacarose, neste caso, não apresentaram diferença entre os tratamentos.

Quando estes dados são comparados ao da longevidade e às divisões percentuais de cada fase fenológica, fica evidente que o tempo é um modulador da atividade da folha, conforme esperado pelos trabalhos de KIKUZAWA, (1991 e 1995), KIKUZAWA & ACKERLY, 1999, CHABOT & HICKS, 1982 e REICH *et al*/ 1991 e 1992. Desta forma, as ordens foliares que possuem menor área e, portanto massa possui maior longevidade. Além deste fato o presente trabalho indica que além desta modulação existe a modulação ligada ao desenvolvimento da folha, no qual as folhas de menor área e/ou massa apresentam maior proporção de sua vida nas fases madura e senescente (onde ocorre o maior ganho de carbono, como visto por DIEMER & KORNER, (1996) em relação à fase de expansão (fase na qual a folha não assimila carbono e

possui as maiores taxas respiratórias, conforme visto por DIEMER & KORNER, (1996).

1.8.Apêndice

1.8.1.Análise dentro dos tratamentos por fenologia

A quantidade absoluta de glicose dobrou da segunda para a terceira posição, diminuiu da terceira para a quarta posição e permaneceu constante para as demais posições ($H=30,91$ e $P=0,001$). Quando a quantidade absoluta de glicose foi analisada em relação às fases fenológicas, esta dobrou das folhas expandindo para as folhas maduras e diminuiu um terço para as folhas senescentes ($H=15,33$ e $P<0,001$) como pode ser visto nas Tabelas A1 e A2.

Para a quantidade absoluta de frutose presente nas folhas ocorreu o mesmo padrão da glicose. Sendo neste caso o valor do teste para as posições $H=22,65$ e $P=0,001$. E para as fases fenológicas o valor deste teste é $H= 12,22$ e $P= 0,002$ como pode ser visto nas Tabelas A1 e A2.

Para a quantidade absoluta de sacarose presente nas folhas o padrão em relação à posição apresentada pela glicose e frutose foi mantido ($H= 22,60$ e $P= 0,001$) porém neste caso o aumento da segunda para a terceira posição foi de praticamente 5 vezes. Em relação às fases fenológicas, as folhas senescentes e expandindo apresentaram a mesma quantidade absoluta de sacarose e as folhas maduras apresentaram o dobro deste valor ($H= 10,02$ e $P= 0,007$) como pode ser visto nas Tabelas A1 e A2.

A quantidade absoluta de amido aumentou de 6 a 7 vezes da segunda para a terceira posição, permaneceu constante na quarta posição e diminuiu pela metade para as demais posições ($H= 29,37$ e $P< 0,001$). Quando analisada em relação às fases fenológicas, a quantidade absoluta de amido aumentou 10 vezes das folhas expandindo para as folhas maduras e diminuiu cerca de 3 vezes das folhas maduras para as folhas senescentes ($H= 19,83$ e $P<0,001$). , como pode ser visto nas Tabelas A1 e A2.

Tabela A1: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha⁻¹) presente nas folhas do tratamento de NO₃, distribuída de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5$. N=8 para todas as posições, com exceção da oitava, onde N=6, e da nona onde N=1. Devido a este fato a nona posição foi retirada desta análise.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2ª Posição	4,4 $\pm$ 2,55 ^A	1,3 $\pm$ 0,99 ^A	1,6 $\pm$ 3,01 ^A	11,73 $\pm$ 15,53 ^A
3ª Posição	9,48 $\pm$ 4,82 ^B	2,7 $\pm$ 1,44 ^B	7,80 $\pm$ 4,32 ^B	85,4 $\pm$ 42,90 ^B
4ª Posição	6,8 $\pm$ 6,54 ^A	2,0 $\pm$ 1,91 ^A	6,56 $\pm$ 6,53 ^A	61,2 $\pm$ 39,30 ^B
5ª Posição	2,9 $\pm$ 1,62 ^A	0,9 $\pm$ 0,57 ^A	2,9 $\pm$ 1,79 ^A	34,7 $\pm$ 26,37 ^C
6ª Posição	1,61 $\pm$ 0,78 ^A	0,5 $\pm$ 0,20 ^A	1,8 $\pm$ 0,85 ^A	20,74 $\pm$ 6,71 ^C
7ª Posição	1,4 $\pm$ 0,71 ^A	0,5 $\pm$ 0,19 ^A	1,7 $\pm$ 0,75 ^A	18,6 $\pm$ 5,97 ^A
8ª Posição	1,1 $\pm$ 0,46 ^A	0,4 $\pm$ 0,13 ^A	1,9 $\pm$ 0,88 ^A	9,65 $\pm$ 4,34 ^A
9ª Posição	1,4	0,5	0,02	3,46

Tabela A2: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha⁻¹) presente nas folhas do tratamento de NO₃, distribuída de acordo com a fase fenológica. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=7 para a fase de expansão e para a fase de maturidade e N=41 para a fase de senescência.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
Expansão	4,6 $\pm$ 2,71 ^A	1,4 $\pm$ 1,05 ^A	1,8 $\pm$ 3,18 ^A	7,1 $\pm$ 9,06 ^A
Maturidade	9,69 $\pm$ 5,30 ^B	2,8 $\pm$ 1,57 ^B	7,7 $\pm$ 5,23 ^B	87,6 $\pm$ 46,10 ^B
Senescência	2,9 $\pm$ 3,57 ^C	0,9 $\pm$ 1,03 ^C	3,0 $\pm$ 3,46 ^A	30,7 $\pm$ 27,79 ^C

A quantidade absoluta de glicose permaneceu em seus valores máximos na segunda e na terceira posições, caiu pela metade para a quarta posição e permaneceu constante para as demais posições (H=32,55 e P<0,001) como pode ser visto na Tabela A3. Quando a quantidade absoluta de glicose foi analisada em relação às fases fenológicas, esta caiu conforme as fases avançaram, assim houve uma diminuição pela metade da quantidade absoluta

de glicose das folhas expandindo para as folhas maduras e uma pequena queda para as folhas senescentes ($H=22,05$ e $P< 0,001$) como pode ser visto na Tabela A4.

A quantidade absoluta de frutose permaneceu em seus valores máximos na segunda e na terceira posições e caiu um pouco nas posições quatro e cinco, diminuindo cerca de três vezes para as posições seis e sete e voltando para os valores apresentados pela quarta e quinta posições na oitava posição ($H=33,70$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela A3. Quando a quantidade absoluta de frutose foi analisada em relação às fases fenológicas esta caiu conforme as fases avançaram, assim ocorreu uma pequena queda das folhas expandindo para as folhas maduras e esta diminuiu pela metade para as folhas senescentes ($H= 17,71$ e $P= 0,001$) como pode ser visto na Tabela A4.

A quantidade absoluta de sacarose aumentou nove vezes da segunda para a terceira posição, permaneceu neste valor máximo para a quarta posição e caiu para os valores da segunda posição para a quinta sexta e oitavas posições. A sétima posição apresentou um valor que é a metade do encontrado para a segunda, quinta, sexta e oitavas posições ($H=31,15$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela A3. Quando a quantidade absoluta de sacarose foi analisada em relação às fases fenológicas esta aumentou nove vezes das folhas expandindo para as folhas maduras e retornou aos valores das folhas expandindo para as folhas senescentes ($H= 12,88$ e $P= 0,005$) como pode ser visto na Tabela A4.

A quantidade absoluta de amido dobrou da segunda para a terceira posição e voltou para os valores da segunda posição para as demais posições ($H= 23,67$ e $P=0,001$) como pode ser visto na Tabela A3. Quando a quantidade absoluta de sacarose foi analisada em relação às fases fenológicas houve uma diferença entre estas fases ($H=12,88$ e $P=0,005$). Porém, não foi possível identificar a(s) diferença(s) porque os testes de comparação múltipla não apresentaram diferenças, isto ocorre porque ao realizar múltiplos testes a probabilidade de ocorrer um erro do tipo um é maior do que α , como pode ser visto na Tabela A4.

Tabela A3: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha⁻¹) presente nas folhas do tratamento de NH₄NO₃, distribuída de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=8 para todas as posições, com exceção da segunda, onde N=4 e da sétima onde N=7.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2ª Posição	23,8 $\pm$ 15,71 ^A	7,1 $\pm$ 4,44 ^A	2,0 $\pm$ 1,93 ^A	21,6 $\pm$ 6,37 ^A
3ª Posição	24,6 $\pm$ 13,10 ^A	5,8 $\pm$ 2,60 ^A	18,0 $\pm$ 8,94 ^B	47,9 $\pm$ 12,84 ^B
4ª Posição	12,40 $\pm$ 4,99 ^B	4,4 $\pm$ 2,19 ^B	16,0 $\pm$ 7,12 ^B	36,0 $\pm$ 30,00 ^A
5ª Posição	8,5 $\pm$ 5,75 ^B	3,0 $\pm$ 1,70 ^B	8,4 $\pm$ 7,08 ^A	21,9 $\pm$ 10,12 ^A
6ª Posição	4,1 $\pm$ 1,33 ^B	1,1 $\pm$ 0,31 ^C	4,6 $\pm$ 1,67 ^A	16,6 $\pm$ 7,07 ^A
7ª Posição	2,6 $\pm$ 1,57 ^B	0,7 $\pm$ 0,47 ^C	2,9 $\pm$ 1,23 ^C	10,7 $\pm$ 6,13 ^A
8ª Posição	5,5 $\pm$ 9,64 ^B	1,4 $\pm$ 2,19 ^B	4,1 $\pm$ 3,53 ^A	22,3 $\pm$ 32,80 ^A

Tabela A4: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha⁻¹) presente nas folhas do tratamento de NH₄NO₃, distribuída de acordo com a fase fenológica. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=8 para a fase de expansão, N=7 para a fase de maturidade e N=33 para a fase de senescência.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
Expansão	27,3 $\pm$ 15,42 ^A	6,9 $\pm$ 3,65 ^A	8,7 $\pm$ 10,64 ^A	36,27 $\pm$ 17,67
Maturidade	15,8 $\pm$ 5,32 ^B	4,4 $\pm$ 1,28 ^B	18,7 $\pm$ 5,62 ^B	41,5 $\pm$ 15,32
Senescência	6,59 $\pm$ 6,59 ^C	2,1 $\pm$ 2,19 ^C	6,9 $\pm$ 6,46 ^A	21,5 $\pm$ 22,43

A quantidade absoluta de glicose aumentou 1,5 vezes da segunda para a terceira posição e voltou para os valores da segunda posição para as posições três e quatro. As posições cinco e seis possuíam quantidade absoluta de glicose igual a um terço do valor da segunda posição. A oitava posição, provavelmente devido ao seu N baixo, não apresentou diferença com relação à segunda posição (H=26,00 e P<0,001) como pode ser visto na Tabela A5. Quando a quantidade absoluta de glicose foi analisada em relação às fases fenológicas, esta aumentou cerca de 16% das folhas expandindo para as folhas maduras e

permaneceu constante nas folhas senescentes ($H=18,22$ e $P < 0,001$) como pode ser visto na Tabela A6.

A quantidade absoluta de frutose apresentou diferenças em relação à posição ($H=12,73$ e $P= 0,048$). Porém, não foi possível identificar a diferença porque os testes de comparação múltipla não apresentaram diferenças, isto ocorre porque ao realizar múltiplos testes, a probabilidade de ocorrer um erro do tipo um é maior do que α , como pode ser visto na Tabela A5. Em relação às fases fenológicas ocorreu o mesmo problema detectado para as posições. Neste caso, $H= 7,99$ e $P= 0,046$, como pode ser visto na Tabela A6.

A quantidade absoluta de sacarose apresentou diferenças em relação à posição ($H= 15,64$ e $P= 0,016$). Porém, não foi possível identificar a diferença porque os testes de comparação múltipla não apresentaram diferenças, isto ocorre porque ao realizar múltiplos testes, a probabilidade de ocorrer um erro do tipo um é maior do que α , como pode ser visto na Tabela A5. Em relação às fases fenológicas não houve diferenças significativas ($H= 5,55$ e $P= 0,136$) como pode ser visto na Tabela A6.

A quantidade absoluta de amido aumentou cerca de 5 vezes da segunda para a terceira posição, permaneceu neste valor máximo na quarta posição e diminuiu cerca de 40% para a quinta posição, que possuía valores iguais aos da sétima e oitava posições. A sexta posição apresentou os mesmos valores da segunda posição ($H= 26,94$ e $P < 0,001$) como pode ser visto na Tabela A5. Quando a quantidade absoluta de amido foi analisada em relação às fases fenológicas, aumentou em cerca de quatro vezes das folhas expandindo para as folhas maduras e permaneceu com este mesmo valor para as folhas senescentes ($H=20,95$ e $P < 0,001$) como pode ser visto na Tabela A6.

Tabela A5: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha^{-1}) presentes nas folhas do tratamento de NH_4 , distribuídos de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio

padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=8 para todas as posições, com exceção da segunda, onde N=5, da sétima onde N=4 e da oitava onde N=2.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2ª Posição	22,2 $\pm$ 20,04 ^A	7,0 $\pm$ 7,39	0,8 $\pm$ 1,06	42,0 $\pm$ 55,10 ^A
3ª Posição	36,3 $\pm$ 13,42 ^B	8,4 $\pm$ 2,64	23,3 $\pm$ 17,7	201,0 $\pm$ 90,60 ^B
4ª Posição	30,0 $\pm$ 11,96 ^A	11,1 $\pm$ 7,94	28,3 $\pm$ 24,72	253,6 $\pm$ 66,6 ^B
5ª Posição	19,6 $\pm$ 12,91 ^A	8,1 $\pm$ 5,66	23,9 $\pm$ 17,55	141,7 $\pm$ 89,40 ^C
6ª Posição	6,81 $\pm$ 5,03 ^C	3,8 $\pm$ 3,70	4,5 $\pm$ 5,66	55,2 $\pm$ 43,70 ^A
7ª Posição	3,9 $\pm$ 2,62 ^C	2,8 $\pm$ 3,39	3,18 $\pm$ 3,67	39,9 $\pm$ 28,00 ^A
8ª Posição	2,2 $\pm$ 0,16 ^D	0,6 $\pm$ 0,02	3,7 $\pm$ 1,42	8,8 $\pm$ 3,17 ^D

Tabela A6: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha⁻¹) presentes nas folhas do tratamento de NH₄, distribuídos de acordo com a fase fenológica. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=7 para a fase de expansão, N=10 para a fase de maturidade e N=22 para a fase de senescência.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
Expansão	27,8 $\pm$ 22,95 ^A	8,1 $\pm$ 6,65	5,1 $\pm$ 8,58 ^A	54,9 $\pm$ 8,58 ^A
Maturidade	32,3 $\pm$ 5,78 ^B	7,5 $\pm$ 1,37	25,8 $\pm$ 17,22 ^A	234,3 $\pm$ 80,90 ^B
Senescência	15,9 $\pm$ 13,95 ^B	7,39 $\pm$ 6,91	16,5 $\pm$ 20,00 ^A	129,9 $\pm$ 96,30 ^B

1.8.2. Análise entre tratamentos por posição

Comparando os três tratamentos em relação à quantidade absoluta de glicose presente nas diferentes posições, esta foi diferente para a segunda posição (H= 9,54 e P= 0,008). Neste caso, o tratamento de NO₃ apresentou menor quantidade absoluta de glicose (aproximadamente 80% menor) do que os outros dois tratamentos que apresentaram a mesma quantidade. Para as posições três, quatro, cinco e seis também houve diferenças (H= 15, 37 e P< 0,001; H= 14,96 e P= 0,001; H= 10, 96 e P= 0,004; H= 7,66 e P= 0,22; respectivamente). Porém, neste caso, o tratamento de NH₄ apresentou os maiores valores, seguido pelo tratamento de NH₄NO₃ (aproximadamente 32% menor) e apresentando os menores valores o tratamento de NO₃ (aproximadamente 73% menor do que o tratamento de NH₄ e

aproximadamente 61% menor do que o tratamento de NH_4NO_3). Para as posições sete e oito não houve diferenças entre os tratamentos, como pode ser visto na Tabela A7.

Tabela A7: Quantidade absoluta de glicose (mg folha^{-1}) presente nas folhas dos diferentes tratamentos, distribuída de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$.

	NH_4	NH_4NO_3	NO_3
2ª Posição	$22,2 \pm 20,04^A$	$23,8 \pm 15,71^A$	$4,4 \pm 2,55^B$
3ª Posição	$36,3 \pm 13,42^A$	$24,6 \pm 13,10^A$	$9,5 \pm 4,82^C$
4ª Posição	$30,0 \pm 11,96^A$	$12,40 \pm 4,99^B$	$6,8 \pm 6,54^C$
5ª Posição	$19,6 \pm 12,91^A$	$8,5 \pm 5,75^B$	$2,9 \pm 1,62^C$
6ª Posição	$6,81 \pm 5,03^A$	$4,1 \pm 1,33^B$	$1,61 \pm 0,78^C$
7ª Posição	$3,9 \pm 2,62^A$	$2,6 \pm 1,57^A$	$1,4 \pm 0,71^A$
8ª Posição	$2,2 \pm 0,16^A$	$5,5 \pm 9,64^A$	$1,1 \pm 0,46^A$

Comparando os três tratamentos em relação à quantidade absoluta de frutose presente nas diferentes posições, houve diferenças significativas para a terceira, quarta e quinta posições ($H = 13,23$ $P = 0,001$; $H = 10,60$ e $P = 0,005$; $H = 13,06$ e $P = 0,001$, respectivamente). Para estas três posições o tratamento de NH_4 apresentou os maiores valores (aproximadamente 30% maior do que o tratamento de NH_4NO_3 e aproximadamente 67% maior do que o tratamento de NO_3) seguido pelo tratamento de NH_4NO_3 (aproximadamente 53% maior do que o tratamento de NO_3) e apresentando os menores valores o tratamento de NO_3 . Em relação à sexta posição também houve diferenças significativas ($H = 8,74$ e $P = 0,013$). Porém, neste caso, o tratamento de NH_4 apresentou os maiores valores (aproximadamente 78% maior) e não houve diferença entre os dois outros tratamentos. Para as posições dois, sete e oito não houve diferença entre os tratamentos, como pode ser visto na Tabela A8.

Tabela A8: Quantidade absoluta de frutose (mg folha^{-1}) presente nas folhas dos diferentes tratamentos, distribuída de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$.

	NH ₄	NH ₄ NO ₃	NO ₃
2ª Posição	7,0 $\pm$ 7,39 ^A	7,1 $\pm$ 4,44 ^A	1,3 $\pm$ 0,99 ^A
3ª Posição	8,4 $\pm$ 2,64 ^A	5,8 $\pm$ 2,60 ^B	2,7 $\pm$ 1,44 ^C
4ª Posição	11,1 $\pm$ 7,94 ^A	4,4 $\pm$ 2,19 ^B	2,0 $\pm$ 1,91 ^C
5ª Posição	8,1 $\pm$ 5,66 ^A	3,0 $\pm$ 1,70 ^B	0,9 $\pm$ 0,57 ^C
6ª Posição	3,8 $\pm$ 3,70 ^A	1,1 $\pm$ 0,31 ^B	0,5 $\pm$ 0,20 ^B
7ª Posição	2,8 $\pm$ 3,39 ^A	0,7 $\pm$ 0,47 ^A	0,5 $\pm$ 0,19 ^A
8ª Posição	0,6 $\pm$ 0,02 ^A	1,4 $\pm$ 2,19 ^A	0,4 $\pm$ 0,13 ^A

Comparando os três tratamentos em relação à quantidade absoluta de sacarose presente nas diferentes posições, houve diferenças significativas nas posições três, quatro e cinco ($H = 6,66$ e $P = 0,036$; $H = 7,22$ e $P = 0,27$; $H = 9,50$ e $P = 0,009$, respectivamente). Para as posições três e cinco o tratamento de NO₃ apresentou os menores valores (aproximadamente 60% menor) e os outros dois tratamentos apresentaram valores iguais. Para a quarta posição o tratamento de NH₄ apresentou os maiores valores (aproximadamente 60% maior) e os outros dois tratamentos apresentaram valores iguais. As posições dois, seis, sete e oito não apresentaram diferenças significativas, como pode ser visto na Tabela A9.

Tabela A9: Quantidade absoluta de sacarose (mg folha^{-1}) presente nas folhas dos diferentes tratamentos, distribuída de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$.

	NH ₄	NH ₄ NO ₃	NO ₃
2ª Posição	0,8 $\pm$ 1,06 ^A	2,0 $\pm$ 1,93 ^A	1,6 $\pm$ 3,01 ^A
3ª Posição	23,3 $\pm$ 17,7 ^A	18,0 $\pm$ 8,94 ^A	7,80 $\pm$ 4,32 ^B
4ª Posição	28,3 $\pm$ 24,72 ^A	16,0 $\pm$ 7,12 ^B	6,56 $\pm$ 6,53 ^B
5ª Posição	23,9 $\pm$ 17,55 ^A	8,4 $\pm$ 7,08 ^A	2,9 $\pm$ 1,79 ^B
6ª Posição	4,5 $\pm$ 5,66 ^A	4,6 $\pm$ 1,67 ^A	1,8 $\pm$ 0,85 ^A
7ª Posição	3,18 $\pm$ 3,67 ^A	2,9 $\pm$ 1,23 ^A	1,7 $\pm$ 0,75 ^A
8ª Posição	3,7 $\pm$ 1,42 ^A	4,1 $\pm$ 3,53 ^A	1,9 $\pm$ 0,88 ^A

Comparando os três tratamentos em relação à quantidade absoluta de amido presente nas diferentes posições houve diferenças nas posições três, quatro e cinco ($H = 14,35$ e $P = 0,001$; $H = 15,86$ e $P < 0,001$; $H = 10,12$ e $P = 0,006$, respectivamente). Para a posição quatro o tratamento de NH₄ apresentou o maior valor (aproximadamente 80% maior), e os outros dois tratamentos apresentaram valores iguais. Para a terceira e quinta posições os três tratamentos se separaram, sendo que o tratamento de NH₄ apresentou os maiores valores (aproximadamente 57% maior do que o tratamento de NO₃ e aproximadamente 76% maior do que o tratamento de NH₄NO₃) seguido pelo tratamento de NO₃ (aproximadamente 43% maior do que o tratamento de NH₄NO₃) e por último o tratamento de NH₄NO₃, como pode ser visto na Tabela A10.

Tabela A10: Quantidade absoluta de amido (mg folha^{-1}) presente nas folhas dos diferentes tratamentos, distribuído de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os

dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$.

	NH ₄	NH ₄ NO ₃	NO ₃
2ª Posição	42,0 $\pm$ 55,10 ^A	21,6 $\pm$ 6,37 ^A	11,73 $\pm$ 15,53 ^A
3ª Posição	201,0 $\pm$ 90,60 ^A	47,9 $\pm$ 12,84 ^B	85,4 $\pm$ 42,90 ^C
4ª Posição	253,6 $\pm$ 66,6 ^A	36,0 $\pm$ 30,00 ^B	61,2 $\pm$ 39,30 ^B
5ª Posição	141,7 $\pm$ 89,40 ^A	21,9 $\pm$ 10,12 ^B	34,7 $\pm$ 26,37 ^C
6ª Posição	55,2 $\pm$ 43,70 ^A	16,6 $\pm$ 7,07 ^A	20,74 $\pm$ 6,71 ^A
7ª Posição	39,9 $\pm$ 28,00 ^A	10,7 $\pm$ 6,13 ^A	18,6 $\pm$ 5,97 ^A
8ª Posição	8,8 $\pm$ 3,17 ^A	22,3 $\pm$ 32,80 ^A	9,65 $\pm$ 4,34 ^A

Quando comparada em relação às folhas expandindo a quantidade absoluta de glicose foi diferente nos três tratamentos (H= 11,70 e P= 0,003). O tratamento de NO₃ apresentou os menores valores (aproximadamente 85% menor) e os outros dois tratamentos apresentaram valores iguais. A quantidade absoluta de frutose também apresentou diferenças (H= 8,15 e P= 0,017). Sendo o padrão igual ao da glicose. A quantidade absoluta de sacarose não apresentou diferenças (H= 4,35 e P= 0,113). A quantidade absoluta de amido apresentou diferenças significativas também (H= 9,41 e P= 0,009). Sendo o padrão de diferenças o mesmo apresentado pela glicose e pela frutose conforme pode ser vistos nas Tabelas A11 a A14.

Quando comparada em relação às folhas maduras a quantidade absoluta de glicose foi diferente nos três tratamentos (H= 17,23 e P< 0,001). Neste caso o tratamento de NH₄ apresentou os maiores valores (aproximadamente 70% maior do que o tratamento de NO₃ e aproximadamente 51% maior do que o tratamento de NH₄NO₃), seguido pelo tratamento de NH₄NO₃ (aproximadamente 38% maior do que o tratamento de NO₃) e por último o tratamento de NO₃. Como pode ser visto nas Tabelas A11 a A14.

A quantidade absoluta de frutose também apresentou diferenças significativas (H= 15,95 e P< 0,001). O padrão apresentado foi o mesmo da glicose, porém o tratamento de NH₄ foi aproximadamente 62% maior do que o tratamento de NO₃ e aproximadamente 41% maior do que o tratamento de NH₄NO₃, que por sua vez foi 36% maior do que o tratamento de NO₃. Como pode ser visto nas Tabelas A11 a A14.

A quantidade absoluta de sacarose também apresentou diferenças significativas ($H= 7,73$ e $P= 0,021$) porém neste caso apenas o tratamento de NO_3 foi diferente, possuindo os menores valores (aproximadamente 82% menor). Como pode ser visto nas Tabelas A11 a A14.

A quantidade absoluta de amido apresentou diferenças entre os tratamentos ($H= 7,73$ e $P< 0,001$). Neste caso o tratamento de NH_4 apresentou os maiores valores (aproximadamente 62% maior do que o tratamento de NO_3 e aproximadamente 82% maior do que o tratamento de NH_4NO_3) seguido pelo tratamento de NO_3 (aproximadamente 52% maior do que o tratamento de NH_4NO_3) e por último o tratamento de NH_4NO_3 , como pode ser vistos nas Tabelas A11 a A14.

Quando comparada em relação às folhas senescentes a quantidade absoluta de glicose foi diferente nos três tratamentos ($H= 31,99$ e $P< 0,001$). Neste caso o tratamento de NH_4 apresentou os maiores valores (aproximadamente 81% maior do que o tratamento de NO_3 e aproximadamente 58% maior do que o tratamento de NH_4NO_3) seguido pelo tratamento de NH_4NO_3 (aproximadamente 55% maior do que o tratamento de NO_3) e por último o tratamento de NO_3 , como pode ser visto nas Tabelas A11 a A14.

A quantidade absoluta de frutose também apresentou diferenças significativas ($H= 33,54$ e $P< 0,001$). O padrão apresentado foi o mesmo da glicose. Neste caso o tratamento de NH_4 apresentou valores aproximadamente 87% maior do que o tratamento de NO_3 e aproximadamente 71% maior do que o tratamento de NH_4NO_3 , que por sua vez foi aproximadamente 57% maior do que o tratamento de NO_3 , como pode ser visto nas Tabelas A11 a A14.

A quantidade absoluta de sacarose não apresentou diferenças significativas ($H= 31,99$ e $P< 0,001$) como pode ser visto nas Tabelas A11 a A14.

A quantidade absoluta de amido apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, no qual o tratamento de NH_4 apresentou os maiores valores (aproximadamente 79% maior) e os outros tratamentos apresentaram valores iguais entre si e menores do que o tratamento de NH_4 , como pode ser visto nas Tabelas A11 a A14.

Tabela A11: Quantidade absoluta de glicose (mg folha⁻¹) presente nas folhas dos diferentes tratamentos, distribuída de acordo com a fase fenológica. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$.

	NH ₄	NH ₄ NO ₃	NO ₃
Expansão	27,8 $\pm$ 22,95 ^A	27,3 $\pm$ 15,42 ^A	4,6 $\pm$ 2,71 ^B
Maturidade	32,3 $\pm$ 5,78 ^A	15,8 $\pm$ 5,32 ^B	9,7 $\pm$ 5,30 ^C
Senescência	15,9 $\pm$ 13,95 ^A	6,6 $\pm$ 6,59 ^B	2,9 $\pm$ 3,57 ^C

Tabela A12: Quantidade absoluta de frutose (mg folha⁻¹) presente nas folhas dos diferentes tratamentos, distribuída de acordo com a fase fenológica. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$.

	NH ₄	NH ₄ NO ₃	NO ₃
Expansão	8,1 $\pm$ 6,65 ^A	6,9 $\pm$ 3,65 ^A	1,4 $\pm$ 1,05 ^B
Maturidade	7,5 $\pm$ 1,37 ^A	4,4 $\pm$ 1,28 ^B	2,8 $\pm$ 1,57 ^C
Senescência	7,4 $\pm$ 6,91 ^A	2,1 $\pm$ 2,19 ^B	0,9 $\pm$ 1,03 ^C

Tabela A13: Quantidade absoluta de sacarose (mg folha⁻¹) presente nas folhas dos diferentes tratamentos, distribuída de acordo com a fase fenológica. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$.

	NH ₄	NH ₄ NO ₃	NO ₃
Expansão	5,1 $\pm$ 8,58 ^A	8,7 $\pm$ 10,64 ^A	1,8 $\pm$ 3,18 ^A
Maturidade	25,8 $\pm$ 17,22 ^A	18,7 $\pm$ 5,62 ^A	7,7 $\pm$ 5,23 ^B
Senescência	16,5 $\pm$ 20,00 ^A	6,9 $\pm$ 6,46 ^A	3,0 $\pm$ 3,46 ^A

Tabela A14: Quantidade absoluta de Amido (mg folha^{-1}) presente nas folhas dos diferentes tratamentos, distribuído de acordo com a fase fenológica. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$.

	NH_4	NH_4NO_3	NO_3
Expansão	$54,9 \pm 8,58^A$	$36,3 \pm 17,67^A$	$7,1 \pm 9,06^B$
Maturidade	$234,3 \pm 80,90^A$	$41,5 \pm 15,32^B$	$87,6 \pm 46,10^C$
Senescência	$129,9 \pm 96,30^A$	$21,5 \pm 22,43^B$	$30,7 \pm 27,79^B$

CAPÍTULO 2

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NH_4 NA
ONTOGENIA FOLIAR E NA ESTRUTURA VERTICAL DA COPA

2.1. Introdução

O nitrogênio figura entre os elementos minerais mais abundantes das plantas e é tido como um dos principais fatores limitantes destas. O aumento da concentração de nitrogênio leva a um aumento da área foliar (DEWAR, 1996; STITT & SCHULZE, 1994) que, por sua vez, é um dos principais determinantes do crescimento das plantas, muito mais, por exemplo, do que o aumento da taxa de fotossíntese (STITT & SCHULZE, 1994). Neste trabalho os autores revisam uma série de experimentos com plantas transgênicas que possuem menor quantidade de rubisco (primeira enzima do ciclo de Calvin, tida como fator limitante) e, portanto, menor taxa de assimilação de CO₂ no nível foliar. A principal surpresa destes experimentos foi que o crescimento destas plantas foi igual ao das plantas selvagens. Isto foi conseguido porque as plantas transgênicas apresentaram maior área foliar e, mais interessante ainda é que plantas com a mesma taxa de fotossíntese, porém crescidas em concentrações crescentes de nitrogênio, apresentaram taxas de crescimento crescentes.

O trabalho de REICH *et al*, 1992 mostra que conforme a concentração de nitrogênio foliar aumenta entre espécies a longevidade foliar diminui, em um trabalho com 10 espécies de gramíneas o aumento da fertilização de nitrogênio diminuiu a longevidade das folhas (CRAINE & REICH 2001), porém trabalhos com deficiência de nitrogênio demonstram que há uma aceleração da senescência foliar e portanto uma diminuição do tempo de vida foliar, conforme revistos por THOMAS & STODDART 1980. Podemos verificar que, desta forma, não existe um consenso sobre o efeito do aumento da concentração de nitrogênio na longevidade foliar.

A deficiência de nitrogênio leva a um acúmulo de amido (GEIGER *et al* 1999; NIELSEN *et al* 1998; PAUL & STITT 1993) e este acúmulo de amido parece ser o responsável pelo menor crescimento das plantas (SULPICE *et al* 2009).

2.2.Objetivos

O objetivo deste trabalho é verificar se o aumento da concentração de nitrogênio leva a uma mudança no desenvolvimento foliar, especificamente se as maiores concentrações deste elemento levam ao aumento da fase de maturidade da folha e verificar com o modelo proposto no capítulo anterior as consequências desta mudança na estrutura vertical da copa.

Uma vez que o aumento da concentração de nitrogênio leva ao maior crescimento da planta, o qual requer esqueletos de carbono, queremos verificar se a quantidade de carboidratos diminui para todas as partes da copa ou se este efeito ocorre em um lugar específico. Esta questão surge porque os trabalhos da literatura ou utilizam a 1ª folha totalmente expandida ou juntam todas as folha num “pool” e desta forma não encontramos nenhuma informação sobre o perfil vertical da copa.

Pretendemos verificar também se esta menor quantidade de carboidratos ocorre em uma fase específica da ontogenia foliar e como isto se relaciona com a longevidade foliar.

2.3.Material e métodos

O material vegetal, as medidas do comprimento foliolar, fenologia, biomassa e análise de carboidratos não estruturais foram realizados da mesma forma que o descrito no capítulo anterior, sendo aqui descritas somente as metodologias diferentes.

2.3.1.Desenho experimental

O experimento foi realizado nos jardins do instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, localizado em São Paulo (23°33'57.23"S 46°43'52.90"W) durante os meses de maio a julho de 2009.

Através de sorteio foram estabelecidos sete grupos experimentais com 10 plantas em cada grupo. Um grupo não recebeu NH_4 e cada um dos demais

grupos recebeu uma concentração diferente de NH_4 . e as concentrações utilizadas foram: 2mM de NH_4 , o próximo 4 mM de NH_4 , o outro 8 mM de NH_4 , o próximo 16 mM de NH_4 , o outro 32 mM de NH_4 e o último 64 mM de NH_4 . A partir de agora esses tratamentos serão referidos como sem nitrogênio, 2mM, 4mM, 8mM, 16mM, 32mM e 64mM respectivamente. Desta forma obtivemos um desenho de blocos totalmente casualizados.

Devido à herbivoria, erros na manipulação e devido a uma chuva de granizo, as perdas foram diferentes para cada tratamento o que gerou um desequilíbrio na amostragem.

As plantas de cada tratamento receberam 100ml de solução nutritiva de NH_4 descrito no capítulo anterior com exceção do NH_4Cl que foi adicionado conforme pode ser visto na tabela 1.

Tabela 1: Quantidade para 1litro de NH_4Cl usada no experimento. O número entre parênteses representa a concentração da solução estoque deste nutriente.

	2mM	4 mM	8 mM	16 mM	32 mM	64 mM
NH_4Cl (1M)	2 ml	4 ml	8 ml	16 ml	32 ml	64 ml

2.3.2.Coletas não destrutivas

2.3.2.1.Medidas da taxa de assimilação líquida saturada de luz

O folíolo distal do lado direito (visto a partir do caule) foi usado na realização destas medidas ao longo de seu desenvolvimento para os tratamentos de 8mM, 16mM, 32mM e 64mM. Os outros tratamentos não foram utilizados devido à pequena área das folhas e ou à ausência destas no momento da coleta. O início das medidas ocorreu quando o folíolo em questão estava aberto (estes folíolos nascem dobrados ao longo da nervura central).

As medidas da taxa de assimilação foram realizadas com o sistema de trocas gasosas da Li-Cor, Li 6400x, o qual é um sistema aberto que funciona com dois irgas absolutos (*irga= infrared gás analyser*). A concentração de CO₂ foi mantida constante a 380ppm e a luz foi utilizada de 1500 μM de fótons $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$. A temperatura do bloco foi mantida constante a 25° C.

2.3.2.2.Demografia

Neste experimento durante as coletas fenológicas o número de folhas foi contado.

2.3.3.Coletas destrutivas

2.3.3.1. Clorofila a e b

Na coleta final do experimento um disco foliar de 1,7cm² foi retirado da maioria das folhas, congelado em nitrogênio líquido e estocado à -80° C até serem extraídas de acordo PORRA *et al*/ 1989 Folhas muito pequenas como as apresentadas no tratamento de 2mM e folhas muito novas ou senescentes não foram utilizadas, pois receamos que a massa restante fosse insuficiente para as análises de carboidratos.

2.4.Resultados

2.4.1.Demografia

Neste experimento, ao contrário do anterior, o número de folhas foi contado e não modelado. Como neste experimento as datas de nascimento foram anotadas, podemos calcular o intervalo de tempo entre o nascimento de duas folhas consecutivas subtraindo a data de nascimento de uma folha da folha

anterior. Antes do início do tratamento as plantas já possuíam o cotilédone e a primeira folha, que nasceu após seis dias do nascimento do cotilédone, a segunda folha, independentemente do tratamento, nasceu com intervalo de onze dias da folha anterior.

Conforme pode ser visto na Figura 1 podemos observar que o aumento das concentrações de nitrogênio teve um efeito profundo no nascimento das folhas durante o período experimental. O tratamento sem nitrogênio apresentou o nascimento de mais ou menos três folhas até o 27º dia de experimento e ficou praticamente constante até o 60º dia, quando nasceu uma folha e permaneceu constante novamente até o 120º dia de experimento, ocorrendo um novo aumento de folhas até o final do experimento. Neste tratamento foram produzidas em média sete folhas (cotilédone + 6 folhas).

Os demais tratamentos já não apresentaram uma fase na qual não é produzido folhas e estas aumentaram progressivamente até o final do experimento.

Para o tratamento de 2mM o intervalo entre o nascimento de cada folha ocorreu em média a cada 20,3 dias. Neste caso foram produzidas em média 10,2 folhas (cotilédone + 9 folhas) conforme pode ser visto na Figura 1.

O tratamento de 4mM apresentou uma diminuição no intervalo de nascimento entre as folhas aproximadamente de 16,4 dias. Neste tratamento foram produzidas em média 16,1 folhas (cotilédone + 15 folhas) e este número não diferiu do tratamento de 2mM.

O tratamento de 8mM apresentou um padrão muito semelhante ao de 4mM, sendo que neste caso, o intervalo entre os nascimentos foi de 14 dias. Neste tratamento foram produzidas em média 13,2 folhas (cotilédone + 12 folhas) apesar deste tratamento não se separar do de 4mM ele foi significativamente maior do que o tratamento de 2mM, conforme pode ser visto na Figura 1.

O tratamento de 16mM apresentou um intervalo de nascimento ao redor de 12,4 dias. Para este tratamento foram produzidas em média 13,9 folhas (cotilédone + 12 folhas) portanto, este não diferiu do tratamento de 8mM, mas foi diferente dos tratamentos de menores concentrações, conforme pode ser visto na Figura 1.

O tratamento de 32mM apresentou em média 11,4 dias de intervalo entre o nascimento das folhas. Neste tratamento foram produzidas, em média, 15,4 folhas (cotilédone + 14 folhas) e foi diferente dos demais tratamentos, conforme pode ser visto na Figura 1.

O tratamento de 64mM apresentou o menor intervalo de nascimento entre as folhas sendo em média 9,9 dias. Este tratamento produziu em média 17 folhas (cotilédone + 16 folhas) conforme pode ser visto na Figura 1.

Figura 1: número médio de folhas produzidas pelos tratamentos ao longo do experimento.

O número médio de folhas durante o experimento aumentou para todos os tratamentos durante o período experimental. No final do experimento o tratamento sem nitrogênio apresentou em média 4,86 folhas. Como neste tratamento foram produzidas sete folhas, duas folhas morreram ao longo do experimento. No final do experimento o tratamento de 2mM apresentou em média 6,6 folhas, como nasceram 10,2 folhas praticamente quatro folhas morreram durante o experimento, como pode ser visto na Figura 2.

O tratamento de 4mM apresentou 7,1 folhas em média ao final do experimento, como nasceram 11, 6 folhas, em média quatro folhas morreram durante o experimento. O tratamento de 8mM apresentou 7,8 folhas ao final do experimento, como nasceram 13,2 folhas, praticamente cinco folhas morreram durante o experimento. O tratamento de 16mM apresentou 10 folhas ao final

do experimento, como nasceram 13,9, praticamente quatro folhas morreram durante o experimento, como pode ser visto na Figura 2.

O tratamento de 32mM apresentou 11,1 folhas ao final do experimento, como nasceram 15,4 folhas, praticamente quatro folhas morreram ao longo do experimento. O tratamento de 64mM apresentou 13,8 folhas ao final do experimento, como nasceram praticamente 17 folhas, cerca de três folhas morreram ao final do experimento, como pode ser visto na Figura 2.

Figura 2: Número médio de folhas presentes nos tratamentos ao longo do experimento.

2.4.2. longevidade foliar

Devido a uma baixa taxa de mortalidade apresentada por todos os tratamentos, apenas o cotilédone, a 1ª, a 2ª e a 3ª folha apresentaram mortes em todos os indivíduos e, portanto, os cálculos da longevidade e das porcentagens de cada fase fenológica, só puderam ser realizados nestas folhas

O cotilédone apresentou entre 73 e 88 dias de vida e não houve diferença entre os tratamentos. A primeira folha possuiu longevidade entre 97 e 134 dias, e houve diferenças do tratamento para esta folha. O tratamento de 2mM apresentou as menores longevidades, seguido pelo tratamento de 4mM. Os tratamentos de 16mM, 32mM e 64mM foram agrupados e diferem dos dois tratamentos anteriores. O tratamento de 8mM não diferiu do tratamento de

4mM nem destes três últimos. A segunda folha, por outro lado, apresentou apenas diferenças entre o tratamento de 64mM e de 4mM, que apresentaram os menores e os maiores valores respectivamente. Os demais tratamentos não se diferenciaram destes dois grupos. Para a terceira folha, ocorreu a separação do tratamento de 8mM em relação aos dois tratamentos de maiores concentrações (32mM e 64mM) e os demais tratamentos não se diferenciaram destes, como pode ser visto na Tabela 2.

Tabela 2 Valores da longevidade em dias para o cotilédone, 1ª folha, 2ª folha e 3ª folha para os tratamentos. N=8.

	cotilédone	1ª folha	2ª folha	3ª folha
2 mM	78,3 ± 7,28 ^A	97,9 ± 2,03 ^A	125,13 ± 20,38 ^{AB}	118,7 ± 3,21 ^{AB}
4 mM	73,7 ± 15,14 ^A	107,5 ± 6,94 ^B	130,3 ± 3,23 ^A	116,2 ± 7,16 ^{AB}
8 mM	78,5 ± 6,10 ^A	121,3 ± 11,83 ^{BC}	124,4 ± 6,66 ^{AB}	113,2 ± 3,15 ^A
16 mM	88,5 ± 14,62 ^A	123,1 ± 7,98 ^C	120,6 ± 10,61 ^{AB}	117,7 ± 4,62 ^{AB}
32 mM	86,6 ± 7,01 ^A	134,7 ± 13,41 ^C	130,1 ± 5,47 ^{AB}	122,4 ± 4,38 ^B
64 mM	76,2 ± 7,73 ^A	121,8 ± 9,96 ^C	122,1 ± 5,94 ^B	123,0 ± 7,41 ^B

2.4.3.Fases fenológicas

O cotilédone por nascer expandido apresentou apenas a fase de maturidade e de senescência, e as folhas apresentaram, além destas duas, a fase de expansão. Estas fases foram analisadas na forma de porcentagem em relação à longevidade e estão representadas nas Figuras de 3 a 8

O cotilédone passou a maior parte de sua vida na fase de maturidade (de 62 a 86% da longevidade). Analisando entre os tratamentos ocorreu uma diferença apenas para o tratamento de 64mM que apresentou as maiores fases de maturidade e concomitantemente as menores fases de senescência, como representado nas Figuras 3 a 8.

A primeira folha independentemente do tratamento passou a maior parte de sua vida na fase de senescência (de 54 a 75%) e madura (de 17 a 36%). Quando analisamos as fases fenológicas em relação ao tratamento, não houve diferenças significativas entre os tratamentos para a fase de expansão. Os dois tratamentos de maior concentração (32mM e 64mM) apresentaram as menores

porcentagens na fase de maturidade, seguidos pelos dois tratamentos intermediários (8mM e 16mM) e com as maiores porcentagens de maturidade ficaram os dois tratamentos com menores concentrações (2mM e 4mM). As porcentagens de senescência apresentaram o padrão inverso ($H=37,06$ e $P<0,001$ para a fase de senescência e $H=37,98$ e $P<0,001$ para a fase de maturidade) como representado nas Figuras 3 a 8.

Para a segunda folha, novamente, não houve diferenças nas fases de expansão. Para esta folha houve uma inversão em relação à primeira folha, uma vez que para a segunda folha os três tratamentos de menor concentração (2mM, 4mM e 8mM) apresentaram as menores fases de maturidade e os três tratamentos de maiores concentrações apresentaram as maiores fases de maturidade ($H=33,01$ e $P<0,001$). A fase de senescência apresentou o padrão inverso da fase de maturidade ($H=33,93$ e $P<0,001$).

Para a terceira folha desta vez ocorreu uma diferença significativa na fase de expansão entre os tratamentos ($H=15,71$ e $P=0,008$). Porém, as diferenças entre os tratamentos não foram claras e de uma forma geral os dois tratamentos de menor concentração (2mM e 4mM) apresentaram as maiores fases de expansão. Os tratamentos de maior concentração (16mM, 32mM e 64mM) apresentaram a maior fase de maturidade em relação aos tratamentos de menor concentração (2mM, 4mM e 8mM). ($H= 28,19$ e $P<0,001$). A fase de senescência apresentou menores valores para os dois tratamentos de maior concentração (32mM e 64mM) em relação aos outros tratamentos ($H=12,30$ e $P=0,031$).

Como a quarta folha apresentou baixa taxa de mortalidade está representada nos gráficos, mas não entrou nas análises.

Figura 3: Fases fenológicas do cotilédone, da 1ª, 2ª, e 3ª folha, para o tratamento de 2mM.

Figura 4: Fases fenológicas do cotilédone, da 1ª, 2ª, e 3ª folha, para o tratamento de 4mM.

Porcentagens em relação a longevidade

Figura 5: Fases fenológicas do cotilédone, da 1ª, 2ª, e 3ª folha, para o tratamento de 8mM.

Porcentagens em relação a longevidade

Figura 6: Fases fenológicas do cotilédone, da 1ª, 2ª, e 3ª folha, para o tratamento de 16mM.

Figura 7: Fases fenológicas do cotilédone, da 1ª, 2ª, e 3ª folha, para o tratamento de 32mM.

Figura 8: Fases fenológicas do cotilédone, da 1ª, 2ª, e 3ª folha, para o tratamento de 64mM.

2.4.4. Taxa de assimilação líquida saturada de luz

A taxa de assimilação líquida foi realizada apenas nos tratamentos de 8mM, 16mM, 32mM e 64mM, ao longo da vida da quarta folha. Foi feita também na quinta e sexta folhas, porém, como estas não morreram, nem senesceram, iremos apresentar apenas os dados da quarta folha. As quinta e sexta folhas apresentaram a taxa de assimilação máxima igual ao da quarta folha. Como a data de nascimento foi diferente para cada folha foram utilizados dias de vida de cada folha, ao invés de dias de experimento, para uniformizar os dados.

A taxa de assimilação líquida saturada de luz (A_{sat}) aumentou até após a expansão das folhas e caiu bruscamente no final da vida das folhas para todos os tratamentos analisados.

O valor da A_{sat} para o tratamento de 8mM está representado na Figura 9. O valor máximo (A_{max}) do A_{sat} foi de $21,8 + 0,54 \mu\text{molCO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Comparando com os dados da fenologia para estas plantas, verificamos que ocorreu um deslocamento do A_{max} em relação ao final da expansão da folha de aproximadamente 10 dias e que quando as folhas foram consideradas senescentes o valor de A_{sat} era metade do valor de A_{max} .

Figura 9: Taxa de assimilação líquida saturada de luz ($\mu\text{molCO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$) ao longo dos dias de vida das folhas para o tratamento de 8mM. N=5 folhas.

O valor da A_{sat} para o tratamento de 16mM está representado na Figura 10. Para o tratamento de 16mM o A_{max} foi de $26,51 + 2,63 \mu\text{molCO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (este valor foi significativamente maior do que o apresentado pelo tratamento de

8mM) e neste caso também ocorreu um deslocamento deste em relação ao final da expansão. Enquanto o $A_{\max}$ foi atingindo ao redor dos 72 dias de experimento, o final da expansão ocorreu em média aos 69 dias. Neste caso as folhas quando senescentes apresentaram um valor muito próximo do $A_{\max}$. A A_{sat} sofreu uma queda brusca apenas no final da vida de cada folha, e isto ocorreu geralmente 20 dias após as folhas serem consideradas senescentes.

Figura 10: Taxa de assimilação líquida saturada de luz ($\mu\text{molCO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$) ao longo dos dias de vida das folhas para o tratamento de 16mM. N=5 folhas.

O valor da A_{sat} para o tratamento de 32mM está representado na Figura 11. Este tratamento apresentou o $A_{\max}$ de $30,8 \pm 3,17 \mu\text{molCO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (foi diferente apenas do tratamento de 8mM). O final da expansão ocorreu aos 62 dias de experimento e a data do $A_{\max}$ aconteceu aproximadamente no dia 72 para quatro plantas e no dia 80 para a planta restante. Quando as folhas foram consideradas senescentes a A_{sat} também estava muito próxima do $A_{\max}$, e só diminuiu bruscamente em geral 30 dias após as folhas serem consideradas senescentes.

Figura 11: Taxa de assimilação líquida saturada de luz ($\mu\text{molCO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$) ao longo dos dias de vida das folhas para o tratamento de 32mM. N=5 folhas.

O valor da A_{sat} para o tratamento de 64mM está representado na Figura 12. Neste tratamento o valor do A_{max} foi de $34,02 \pm 2,85 \mu\text{molCO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (foi diferente apenas do tratamento de 8mM). Neste caso também houve um deslocamento entre o final da expansão, que ocorreu entre os dias 60 e 64, e o valor do A_{max} que foi atingido entre os dias 72 e 80 do experimento. Novamente as plantas apresentaram altos valores de A_{sat} quando consideradas senescentes.

Figura 12: Taxa de assimilação líquida saturada de luz ($\mu\text{molCO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$) ao longo dos dias de vida das folhas para o tratamento de 64mM. N=5 folhas.

2.4.5.Biomassa

No final do experimento as plantas foram coletadas, divididas em raiz, caule, folha e raques e cada um desses compartimentos foi seco até atingir massa constante. A biomassa total no final do experimento foi diferente para todos os tratamentos ($H=39,79$; $P<0,001$) e seguiu o aumento da concentração de NH_4 . Já o efeito de dobrar a concentração foi diferente para as duas maiores concentrações de NH_4 , ou seja, dobrar a concentração de 2mM para 4mM, de 4mM para 8mM e de 8mM para 16mM, fez com que a biomassa aumentasse em média 2,6 vezes. Enquanto dobrar a concentração de 16mM para 32mM e de 32mM para 64mM fez com que a biomassa aumentasse apenas 1,7 vezes, conforme pode ser visto na Tabela 3.

Em relação aos compartimentos, houve dois padrões: para a raiz e para o caule ($H=39,34$ e $P<0,001$; $H=39,70$ e $P<0,001$, respectivamente) ocorreu o mesmo padrão da biomassa total e para as folhas e para as raques ($H=38,98$ e $P<0,001$; $H=39,42$ e $P<0,001$, respectivamente) ocorreu a separação de todos os tratamentos, com exceção das duas menores concentrações, onde não houve diferenças entre estas, conforme pode ser visto na Tabela 4

Tabela 3: Quantidade de biomassa (g) total e de cada parte da planta presente no final do experimento. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha =5\%$. $N=6$ para os tratamentos de 2mM, 8mM, 16mM, $N=9$ para o 4mM, $N=7$ para o 32mM, $N=8$ para 64mM.

	Total	Caule	Folha	Raiz	Raque
2 mM	$0,9 \pm 0,19^A$	$0,1 \pm 0,03^A$	$0,2 \pm 0,07^A$	$0,5 \pm 0,09^A$	$0,03 \pm 0,011^A$
4 mM	$2,1 \pm 0,54^B$	$0,3 \pm 0,07^B$	$0,4 \pm 0,11^A$	$1,3 \pm 0,38^B$	$0,08 \pm 0,033^A$
8 mM	$5,4 \pm 0,76^C$	$0,7 \pm 0,13^C$	$1,7 \pm 0,32^B$	$2,9 \pm 0,39^C$	$0,4 \pm 0,7^B$
16 mM	$15,7 \pm 1,13^D$	$2,0 \pm 0,34^D$	$4,9 \pm 0,33^C$	$7,8 \pm 0,58^D$	$0,9 \pm 0,11^C$
32 mM	$25,4 \pm 5,33^E$	$3,4 \pm 0,84^E$	$9,3 \pm 1,44^D$	$10,7 \pm 2,74^E$	$2,0 \pm 0,45^D$
64 mM	$46,9 \pm 3,38^F$	$7,1 \pm 0,56^F$	$16,8 \pm 1,06^E$	$18,6 \pm 1,90^F$	$4,0 \pm 0,30^E$

O tratamento possuiu efeito na alocação de biomassa visto na forma de frações. Neste caso, os tratamentos de 32mM e 64mM apresentaram o menor

investimento em raiz em relação aos outros tratamentos. O tratamento de 4mM apresentou o maior investimento, enquanto os tratamentos de 2mM, 8mM e 16mM apresentaram valores intermediários e iguais entre si, como pode ser visto na Tabela 4.

Para o caule também houve a separação em três grupos, o tratamento de 64mM e 4mM apresentaram os maiores valores, o tratamento de 2mM apresentou os valores intermediários e os tratamentos de 8mM, 16mM e 32mM apresentaram os valores menores e iguais entre si, como pode ser visto na Tabela 4.

Para a fração de folhas também houve a separação em três grupos, só que neste caso os dois tratamentos de maiores concentrações apresentaram os maiores valores, o tratamento de 4mM apresentou os menores valores e os tratamentos de 2mM, 8mM e 16mM apresentaram valores intermediários e iguais entre si. Para a fração raiz o tratamento de 64mM apresentou os maiores valores, seguido pelo tratamento de 32mM e pelo de 16mM. O tratamento de 2mM foi igual ao de 4mM e ambos apresentaram os menores valores. O tratamento de 8mM devido à sua alta variância não se separou de nenhum tratamento, conforme pode ser visto na Tabela 4

Tabela 4: Proporção de biomassa (g g^{-1}) presente nos compartimentos da planta e expressa na forma de frações. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=6 para os tratamentos de 2mM, 8mM, 16mM, N=9 para o 4mM, N= 7 para o 32mM, N=8 para 64 mM.

	Fração caule	Fração folha	Fração raiz	Fração raque
2 mM	$0,15 \pm 0,014^A$	$0,28 \pm 0,03^A$	$0,55 \pm 0,03^A$	$0,03 \pm 0,006^A$
4 mM	$0,16 \pm 0,02^B$	$0,17 \pm 0,04^A$	$0,63 \pm 0,03^B$	$0,04 \pm 0,011^A$
8 mM	$0,12 \pm 0,01^C$	$0,30 \pm 0,02^B$	$0,51 \pm 0,04^C$	$0,06 \pm 0,003^B$
16 mM	$0,12 \pm 0,01^D$	$0,32 \pm 0,01^C$	$0,50 \pm 0,05^D$	$0,05 \pm 0,003^C$
32 mM	$0,13 \pm 0,01^E$	$0,37 \pm 0,03^D$	$0,41 \pm 0,03^E$	$0,08 \pm 0,005^D$
64 mM	$0,15 \pm 0,01^F$	$0,36 \pm 0,01^E$	$0,40 \pm 0,02^F$	$0,09 \pm 0,005^E$

2.4.6.Carboidratos e clorofilas

Os carboidratos, expressos em ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) e as clorofilas, expressas em nmol cm^{-2} serão analisados da seguinte forma: primeiro iremos descrever a relação destas com a posição das folhas e as fases fenológicas, destas dentro de cada tratamento, posteriormente iremos comparar estas mesmas características entre os tratamentos.

2.4.6.1.0 tratamento de 2 mM

A quantidade de glicose sofreu uma queda brusca da segunda para a terceira posição e permaneceu constante para as demais posições, com exceção da quinta que apresentou os menores valores ($H=13,46$ e $P=0,019$) conforme pode ser visto na Tabela 5.

Para a quantidade de frutose também houve uma queda brusca da segunda para a terceira posição, porém neste caso, as demais posições permaneceram constantes. ($H=15,61$ e $P=0,008$) conforme pode ser visto na Tabela 5.

As quantidades de sacarose e de amido, entretanto, não apresentaram diferenças entre as posições ($H=4,69$ e $P=4,45$; $H=10,93$ e $P=0,053$, respectivamente), conforme pode ser visto na Tabela 5.

Quando analisada em relação às fases fenológicas a quantidade de glicose e de frutose diminuiu conforme estas avançaram ($H=9,61$ e $P=0,08$; $H=10,83$ e $P=0,004$, respectivamente) porém, não foi possível confirmar esta tendência geral, pois os testes múltiplos falharam ao separar as fases. Para a quantidade de sacarose e de amido, por outro lado, não houve diferenças significativas entre as fases fenológicas ($H=4,84$ e $P=0,089$; $H=2,14$ e $P=0,343$, respectivamente). como pode ser visto na Tabela 6.

Tabela 5: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes nas folhas do tratamento de 2mM, distribuídos de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio

padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=5 para a segunda e a sexta posições e N= 6 para a terceira, quarta e quinta posições e N=3 para a sétima posição. Os números entre parênteses representam a partição dos carboidratos não estruturais para as posições.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2ª Posição	38,1 $\pm$ 15,93 ^A (24,6%)	12,8 $\pm$ 5,47 ^A (8,3%)	10,3 $\pm$ 6,08 ^A (6,8%)	94,9 $\pm$ 31,40 ^A (60,3%)
3ª Posição	13,9 $\pm$ 5,58 ^B (8,8%)	5,3 $\pm$ 1,84 ^B (3,4%)	17,3 $\pm$ 6,86 ^A (10,6%)	131,5 $\pm$ 45,20 ^A (77,2%)
4ª Posição	11,7 $\pm$ 3,66 ^B (7,3%)	5,2 $\pm$ 3,10 ^B (3,3%)	16,9 $\pm$ 4,79 ^A (11,1%)	129,9 $\pm$ 43,30 ^A (78,3%)
5ª Posição	7,8 $\pm$ 1,73 ^C (6,3%)	3,0 $\pm$ 1,27 ^B (2,5%)	16,3 $\pm$ 3,65 ^A (13,8%)	108,1 $\pm$ 53,70 ^A (77,5%)
6ª Posição	11,5 $\pm$ 3,15 ^B (10,6%)	4,3 $\pm$ 1,51 ^B (3,9%)	19,4 $\pm$ 8,10 ^A (18,5%)	74,2 $\pm$ 18,16 ^A (67,0%)
7ª Posição	9,6 $\pm$ 2,45 ^B (11,6%)	4,5 $\pm$ 0,51 ^B (4,7%)	15,5 $\pm$ 13,65 ^A (25,2%)	49,6 $\pm$ 51,90 ^A (58,5%)

Tabela 6: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes nas folhas do tratamento de 2mM, distribuídos de acordo com a fase fenológica. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=4 para a fase de expansão, N=5 para a fase de maturidade e N=22 para a fase de senescência.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
Expansão	36,1 $\pm$ 17,60	12,3 $\pm$ 6,21	8,9 $\pm$ 5,98 ^A	100,5 $\pm$ 33,30 ^A
Maturidade	21,7 $\pm$ 14,73	7,4 $\pm$ 4,46	15,7 $\pm$ 6,35 ^A	132,3 $\pm$ 53,60 ^A
Senescência	10,2 $\pm$ 3,71	4,3 $\pm$ 2,01	17,5 $\pm$ 6,61 ^A	97,6 $\pm$ 47,50 ^A

2.4.6.2.0 tratamento de 4mM

A quantidade de glicose caiu aproximadamente de 0,6 vezes da segunda para a terceira posição, permaneceu constante da terceira à quinta posição e sofreu uma nova queda também de 0,6 vezes da quinta para a sexta posição, permanecendo neste valor para a sétima posição e voltando aos valores próximos aos da terceira posição para a oitava posição ($H=30,08$, $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 7.

A quantidade de frutose não apresentou diferenças entre as posições (H=8,33 e P= 0,215).

A quantidade de sacarose apresentou diferença entre as posições (H=13,37 e P=0,038) porém, não foi possível identificar a(s) diferença(s) porque os testes de comparação múltipla não apresentaram diferenças, isto ocorreu porque ao realizar múltiplos testes a probabilidade de ocorrer um erro do tipo um é maior do que α , como pode ser visto na Tabela 7.

A quantidade de amido aumentou 1,5 vezes da segunda para a terceira posição, voltou a valores próximos da segunda posição para as posições quatro, cinco, seis e oito e caiu pela metade para a sétima posição, como pode ser visto na Tabela 7.

Quando analisadas em relação às fases fenológicas a glicose permaneceu com o mesmo valor da fase de expansão para a fase de maturidade e diminuiu cerca de 1,7 vezes da fase de maturidade para a fase senescente (H=25, 13, P< 0,001) como pode ser visto na Tabela 7.

A quantidade de sacarose tendeu a aumentar da fase de expansão para a fase de maturidade e permaneceu praticamente constante durante a fase de senescência (H= 6,57 e P= 0,037) como pode ser visto na Tabela 8.

Para a quantidade de frutose e de amido não houve diferenças entre as fases fenológicas (H=3,56 e P=0,169; H=4,69 e P=0,096, respectivamente) como pode ser visto na Tabela 8.

Tabela 7: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes nas folhas do tratamento de 4mM, distribuídos de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=9 para a segunda, terceira, quinta e sexta posições, N=10 para a quarta, N=7 para a sétima posição e N=3 para a oitava posição. Os números entre

parênteses representam a partição dos carboidratos não estruturais para as posições.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2ª Posição	30,1 ± 6,96 ^A (28,8%)	7,3 ± 5,36 ^A (9,0%)	14,1 ± 9,71 ^A (7,0%)	74,9 ± 34,50 ^A (55,3%)
3ª Posição	20,5 ± 6,56 ^B (12,9%)	6,4 ± 2,14 ^A (4,0%)	23,3 ± 4,60 ^A (14,6%)	112,4 ± 24,84 ^B (68,5%)
4ª Posição	16,6 ± 2,50 ^B (12,8%)	6,3 ± 1,93 ^A (4,8%)	22,2 ± 5,68 ^A (17,1%)	98,9 ± 36,00 ^A (65,3%)
5ª Posição	15,6 ± 4,25 ^B (11,7%)	5,8 ± 1,67 ^A (4,3%)	16,5 ± 3,85 ^A (11,6%)	99,2 ± 32,70 ^A (72,4%)
6ª Posição	12,9 ± 1,99 ^C (12,8%)	4,1 ± 1,64 ^A (4,4%)	19,5 ± 6,01 ^A (15,2%)	71,1 ± 26,31 ^A (67,6%)
7ª Posição	13,0 ± 5,26 ^C (15,6%)	4,5 ± 1,90 ^A (5,5%)	16,0 ± 4,95 ^A (18,8%)	49,1 ± 9,07 ^C (60,1%)
8ª Posição	14,8 ± 4,29 ^B (19,5%)	5,4 ± 2,80 ^A (7,2%)	17,5 ± 1,83 ^A (22,9%)	38,9 ± 10,21 ^A (50,4%)

Tabela 8: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais (µg/mg MS) presentes nas folhas do tratamento de 4mM, distribuídos de acordo com a fase fenológica. Os dados são apresentados como média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=7 para a fase de expansão, N=10 para a fase de maturidade e N=39 para a fase de senescência.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
Expansão	30,0 ± 7,90 ^A	7,8 ± 6,11 ^A	12,2 ± 8,42 ^A	75,2 ± 37,80 ^A
Maturidade	23,0 ± 7,13 ^A	6,5 ± 1,83 ^A	22,7 ± 6,73 ^B	104,6 ± 30,35 ^A
Senescência	14,7 ± 3,74 ^B	5,2 ± 1,96 ^A	18,8 ± 5,40 ^B	79,4 ± 13,12 ^A

A quantidade de clorofila a aumentou da segunda para a terceira posição e permaneceu praticamente constante nos valores próximos da terceira posição até a quinta posição (H=9,80 e P=0,044). Para a clorofila b não houve diferenças em relação à posição (H=7,11 e P=0,130) como pode ser visto na Tabela 9.

Tabela 9: Quantidade de clorofila a e b (nmol cm⁻²) presente nas folhas do tratamento de 4mM, distribuída de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior

(com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=4 para a segunda posição, N=9 para a terceira e quarta posição, N= 6 para a quinta posição e N=1 para a sexta posição e por isso esta posição foi retirada da análise.

	Clorofila a	Clorofila b
2ª Posição	17,4 $\pm$ 1,88 ^A	4,7 $\pm$ 0,75 ^A
3ª Posição	23,0 $\pm$ 1,65 ^B	5,6 $\pm$ 0,37 ^B
4ª Posição	21,1 $\pm$ 3,06 ^B	5,6 $\pm$ 0,61 ^B
5ª Posição	20,7 $\pm$ 3,53 ^B	5,6 $\pm$ 0,89 ^B
6ª Posição	20,7	6,11

2.4.6.3.O tratamento de 8 mM

A quantidade de glicose caiu pela metade da segunda para a terceira posição e permaneceu em valores aproximadamente constantes para as demais posições (9H=28,99 e P<1) como pode ser visto na Tabela 10.

A quantidade de frutose apresentou o mesmo padrão da glicose (H=22,01 e P=0,005) como pode ser visto na Tabela 10.

A quantidade de sacarose aumentou cerca de 11 vezes da segunda para a terceira posição, aumentou 1,2 vezes da terceira para a quarta posição e voltou para valores próximos da terceira posição para as demais posições (H=17,32 e P=0,027) como pode ser visto na Tabela 10.

A quantidade de amido permaneceu constante da segunda à sétima posição e caiu cerca de 3 vezes para a oitava e nona posições. (H=23,51 e P=0,003).

Quando analisada em relação às fases de desenvolvimento a frutose diminuiu conforme estas avançaram, desta forma, a quantidade de frutose diminuiu 2,5 vezes da fase de expansão para a fase de maturidade, e diminuiu cerca de 1,4 vezes da fase de maturidade para a fase de senescência (H=24,13, P<0,001) como pode ser visto na Tabela 11.

A quantidade de frutose diminuiu três vezes da fase de expansão para a fase de maturidade, e permaneceu praticamente constante desta fase para a fase de senescência (H=16,94 e P<0,001) como pode ser visto na Tabela 11.

A quantidade de sacarose e de amido por sua vez não apresentou diferenças significativas entre as fases de desenvolvimento ($H=2,26$ e $P=0,323$; $H=4,35$ e $P=0,114$, respectivamente) como pode ser visto na Tabela 11.

Tabela 10: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes nas folhas do tratamento de 8mM, distribuídos de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N= 4 para a segunda posição, N=5 para a terceira e oitava posições, N= 6 para a quarta e quinta, sexta e sétima posições, N=3 para a nona posição e N= 1 para a décima posição. Devido a este fato a décima posição foi retirada desta análise. Os números entre parênteses representam a partição dos carboidratos não estruturais para as posições.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2ª Posição	69,6 $\pm$ 15,01 ^A (38,1%)	23,1 $\pm$ 5,79 ^A (12,7%)	1,0 $\pm$ 1,52 ^A (0,5%)	91,8 $\pm$ 30,50 ^A (48,7%)
3ª Posição	32,1 $\pm$ 13,53 ^B (17,1%)	12,0 $\pm$ 7,31 ^B (6,4%)	11,4 $\pm$ 3,18 ^B (5,8%)	141,9 $\pm$ 48,40 ^A (70,7%)
4ª Posição	24,7 $\pm$ 4,51 ^B (13,4%)	9,7 $\pm$ 2,18 ^B (5,1%)	13,9 $\pm$ 4,55 ^C (7,4%)	150,8 $\pm$ 50,90 ^A (74,1%)
5ª Posição	20,19 $\pm$ 2,99 ^B (22,4%)	8,1 $\pm$ 1,49 ^B (8,12%)	10,4 $\pm$ 3,84 ^B (10,1%)	134,1 $\pm$ 63,70 ^A (59,4%)
6ª Posição	19,5 $\pm$ 1,84 ^B (11,7%)	8,2 $\pm$ 1,58 ^B (5,0%)	10,2 $\pm$ 1,52 ^B (6,2%)	137,3 $\pm$ 48,30 ^A (77,2%)
7ª Posição	18,8 $\pm$ 0,87 ^B (19,5%)	7,6 $\pm$ 1,27 ^B (8,6%)	8,8 $\pm$ 2,40 ^B (8,1%)	78,0 $\pm$ 34,60 ^A (63,8%)
8ª Posição	18,0 $\pm$ 4,23 ^B (27,5%)	6,9 $\pm$ 1,93 ^B (9,9%)	9,5 $\pm$ 5,94 ^B (11,7%)	45,0 $\pm$ 28,50 ^B (50,9%)
9ª Posição	14,1 $\pm$ 3,67 ^B (42,4%)	4,5 $\pm$ 2,85 ^B (11,8%)	5,1 $\pm$ 7,42 ^B (10,0%)	12,7 $\pm$ 5,76 ^B (35,8%)
10ª Posição	12,1	3,6	0,3	6,8

Tabela 11: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes nas folhas do tratamento de 8mM, distribuídos de acordo com a fase fenológica. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=5 para a fase de expansão, N=7 para a fase de maturidade e N=29 para a fase de senescência.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
Expansão	66,9 ± 14,38 ^A	23,4 ± 5,08 ^A	6,1 ± 7,02 ^A	89,8 ± 26,80 ^A
Maturidade	28,9 ± 3,39 ^B	9,5 ± 2,16 ^B	12,7 ± 4,95 ^A	145,3 ± 42,00 ^A
Senescência	18,6 ± 3,32 ^C	7,4 ± 2,04 ^B	9,2 ± 4,38 ^A	94,7 ± 65,90 ^A

A quantidade de clorofila a aumentou da segunda para a quarta posição e permaneceu praticamente constante para a quinta e sexta posição. A terceira e a sétima posições ficaram com valores intermediários em relação aos descritos acima, e portanto, não se diferenciaram destas posições (H=17,82 e P=0,013). Para a quantidade de clorofila b. o padrão foi muito parecido, porém neste caso, a terceira e quarta posições possuíram o mesmo valor da segunda posição e a quinta diferenciou-se da segunda e da quarta, mas não da terceira. As posições seis e sete não se diferenciam de nenhuma (H=16,34 e P=0,022) como pode ser visto na Tabela 12.

Tabela 12: Quantidade de clorofila a e b (nmol cm⁻²) presente nas folhas do tratamento de 8mM, distribuída de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=4 para a terceira e sétima posição, N=5 para a quarta, quinta e sexta posição, N= 3 para a segunda posição e N=1 para a oitava e nona posição e, por isso estas posições foram retiradas da análise.

	Clorofila a	Clorofila b
2ª Posição	19,1 ± 1,22 ^A	5,2 ± 0,33 ^A
3ª Posição	24,9 ± 2,82 ^{AB}	6,1 ± 0,94 ^{AB}
4ª Posição	27,2 ± 1,31 ^B	6,1 ± 0,42 ^{AB}
5ª Posição	29,6 ± 2,16 ^B	7,5 ± 0,66 ^B
6ª Posição	24,0 ± 1,93 ^B	6,5 ± 0,75 ^{AB}
7ª Posição	22,6 ± 4,56 ^{AB}	6,6 ± 0,66 ^{AB}
8ª Posição	28,2	7,5
9ª Posição	23,0	6,1

2.4.6.4.O tratamento de 16 mM

A quantidade de glicose aumentou 1,2 vezes da segunda para a terceira posição e retornou para os valores próximos ao da segunda posição para as demais posições ($H=41,00$ e $P<0,001$) como ser visto na tabela 13.

A quantidade de frutose seguiu o mesmo padrão da glicose, porém o aumento da segunda para a terceira posição foi de aproximadamente 1,5 vezes ($H=22,42$ e $P=0,008$) como ser visto na tabela 13.

A quantidade de sacarose, por outro lado, não apresentou diferenças entre as posições ($H=11,75$ e $P=0,228$) como pode ser visto na tabela 13.

A quantidade de amido permaneceu constante da segunda à quarta posição e aumentou cerca de 1,8 vezes para a quinta posição, permaneceu nesse valor para a sexta posição e retornou ao valores iniciais para a sétima e a oitava posição. Ocorreu uma nova queda de aproximadamente duas vezes da oitava para a nona posição e permaneceu nesses valores para a décima e a décima primeira posição ($H=46,41$ e $P<0,001$) como pode ser visto na tabela 13.

Para este tratamento, e para os dois tratamentos seguintes, foi criada uma nova classe fenológica denominada de brotos. Conforme dito no materiais e métodos esta classe inclui as folhas que estavam completamente fechadas na coleta.

Quando analisada em relação às fases de desenvolvimento, a glicose aumentou cerca de 2,4 vezes, dos brotos para as folhas expandindo, diminuiu cerca de 2,4 vezes para a fase de maturidade e permaneceu praticamente constante desta para a fase de senescência ($H=36,42$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 14.

A quantidade de frutose, por outro lado, aumentou cerca de 5,6 vezes dos brotos para a fase de expansão, permanecendo praticamente constante desta para a fase de maturidade e diminuiu aproximadamente 3 vezes destas duas fases para a fase de senescência ($H=29,68$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 14.

A quantidade de sacarose não apresentou diferenças significativas entre os brotos e a fase de expansão, tendo aumentado 2 vezes desta fase para a fase

de maturidade e permanecido praticamente constante para a fase de senescência (H=12,14 e P=0,007) como pode ser visto na Tabela 14.

A quantidade de amido aumentou cerca de 3 vezes dos brotos para as folhas expandindo e tendeu a permanecer constante para as demais fases (H=8,62 e P=0,035) como pode ser visto na Tabela 14.

Tabela 13: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg MS}$) presentes nas folhas do tratamento de 16 mM, distribuídos de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N= 4 para a segunda posição, N=9 da terceira à nona posições, N= 5 para a décima posição e N=2 para a décima primeira posição e, por este motivo, foi retirada da análise. Os números entre parênteses representam a partição dos carboidratos não estruturais para as posições.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2ª Posição	35,4 $\pm$ 15,55 ^A (38,9%)	9,7 $\pm$ 8,63 ^A (12,7%)	17,6 $\pm$ 12,90 ^A (6,6%)	37,8 $\pm$ 18,01 ^A (41,8%)
3ª Posição	41,8 $\pm$ 15,41 ^B (33,7%)	14,4 $\pm$ 8,24 ^B (12,3%)	14,2 $\pm$ 7,55 ^A (9,3%)	63,1 $\pm$ 35,60 ^A (44,7%)
4ª Posição	28,1 $\pm$ 19,38 ^A (18,9%)	10,9 $\pm$ 8,13 ^A (7,1%)	13,4 $\pm$ 6,53 ^A (14,8%)	88,0 $\pm$ 35,20 ^A (59,2%)
5ª Posição	21,1 $\pm$ 6,68 ^A (14,1%)	8,7 $\pm$ 1,89 ^A (6,1%)	18,2 $\pm$ 3,86 ^A (11,9%)	112,5 $\pm$ 31,20 ^B (68,0%)
6ª Posição	16,2 $\pm$ 3,21 ^A (12,3%)	6,4 $\pm$ 1,59 ^A (5,0%)	15,8 $\pm$ 5,20 ^A (11,3%)	107,0 $\pm$ 33,40 ^B (71,3%)
7ª Posição	17,6 $\pm$ 2,04 ^A (17,2%)	7,7 $\pm$ 1,91 ^A (7,7%)	15,2 $\pm$ 2,13 ^A (13,4%)	84,4 $\pm$ 31,80 ^A (61,8%)
8ª Posição	17,7 $\pm$ 4,30 ^A (23,3%)	7,7 $\pm$ 3,93 ^A (10,0%)	14,1 $\pm$ 2,52 ^A (16,4%)	52,9 $\pm$ 28,77 ^A (50,4%)
9ª Posição	15,9 $\pm$ 2,69 ^A (30,8%)	6,2 $\pm$ 1,50 ^A (11,5%)	15,0 $\pm$ 6,38 ^A (23,5%)	27,2 $\pm$ 16,91 ^C (34,2%)
10ª Posição	14,5 $\pm$ 6,66 ^A (43,3%)	6,5 $\pm$ 2,61 ^A (20,3%)	10,2 $\pm$ 8,92 ^A (24,0%)	7,6 $\pm$ 11,52 ^C (12,4%)
11ª Posição	4,3 $\pm$ 3,74 ^A	1,5 $\pm$ 0,09 ^A	1,5 $\pm$ 0,55 ^A	6,6 $\pm$ 1,23 ^C

Tabela 14: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes nas folhas do tratamento de 16mM, distribuídos de acordo com a fase fenológica. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=3 para os brotos, N=10 para a fase de expansão, N=9 para a fase de maturidade e N=51 para a fase de senescência.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
Brotos	21,9 $\pm$ 6,32 ^A	3,2 $\pm$ 0,66 ^A	22,9 $\pm$ 1,78 ^{AB}	22,8 $\pm$ 1,78 ^A
Expansão	48,8 $\pm$ 10,92 ^B	17,7 $\pm$ 7,04 ^B	10,7 $\pm$ 4,57 ^A	57,7 $\pm$ 22,01 ^B
Maturidade	26,5 $\pm$ 12,66 ^A	9,7 $\pm$ 5,14 ^{BC}	16,1 $\pm$ 3,47 ^B	93,9 $\pm$ 35,90 ^B
Senescência	16,8 $\pm$ 4,60 ^A	7,0 $\pm$ 2,66 ^C	14,5 $\pm$ 5,67 ^B	67,3 $\pm$ 46,82 ^B

A quantidade de clorofila a não apresentou diferenças entre as posições (H=12,46 e P= 0,132). A quantidade de clorofila b dividiu as posições na copa em dois grupos, o primeiro com menores quantidades desta clorofila, foi composto pela terceira, quarta e quinta posições e o segundo grupo com a quantidade um pouco maior, ficaram a sexta e nona posições. As demais posições não diferenciaram-se destes dois grupos (H=26,66 e P=0,001) como pode ser visto na Tabela 15.

Tabela 15: Quantidade de clorofila a e b (nmol cm⁻²) presente nas folhas do tratamento de 16mM, distribuída de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=2 para a segunda e décima posição, N=6 para a nona posição, N= 8 para a terceira posição e N=9 para a quarta, quinta, sexta, sétima e oitava posição.

	Clorofila a	Clorofila b
2ª Posição	23,0 $\pm$ 0,80 ^A	6,6 $\pm$ 1,18 ^{AB}
3ª Posição	26,8 $\pm$ 3,95 ^A	6,6 $\pm$ 0,94 ^A
4ª Posição	29,6 $\pm$ 3,76 ^A	7,1 $\pm$ 0,94 ^A
5ª Posição	30,1 $\pm$ 2,16 ^A	7,5 $\pm$ 0,80 ^A
6ª Posição	31,0 $\pm$ 2,82 ^A	8,5 $\pm$ 0,85 ^B
7ª Posição	30,1 $\pm$ 4,00 ^A	8,5 $\pm$ 1,18 ^{AB}
8ª Posição	27,7 $\pm$ 4,23 ^A	8,46 $\pm$ 2,50 ^{AB}
9ª Posição	28,2 $\pm$ 2,82 ^A	8,9 $\pm$ 0,66 ^B
10 Posição	29,6 $\pm$ 3,29 ^A	9,4 $\pm$ 0,24 ^{AB}

2.4.6.5.0 tratamento de 32 mM

A quantidade de glicose aumentou cerca de 1,6 vezes da terceira para a quarta posição e diminuiu aproximadamente pela metade da quarta para a quinta e sextas posições, a décima primeira posição apresentou valores iguais a essas duas. A sétima, oitava, nona, décima e décima segunda posições apresentaram valores 1,6 vezes menor do que os apresentados pela quinta, sexta e décima primeira posições. (H=49,33 e P<0,001) como pode ser visto na Tabela 16.

A quantidade de frutose aumentou cerca de 3,7 vezes da terceira para a quarta posição e retornou para valores próximos da terceira posição para as demais posições (H=34,63 e P=0,001) como ser visto na Tabela 16.

A quantidade de sacarose, por outro lado, não apresentou diferenças entre as posições (H=9,34 e P=0,501) como pode ser visto na Tabela 16.

A quantidade de amido aumentou cerca de 4 vezes da terceira para a quarta posição, permanecendo aproximadamente nesse valor para a quinta posição e aumentou cerca de 1,2 vezes para a sexta, sétima e oitava posições. Para a nona e décima posições esse valor retornou para valores próximos aos da quarta e quinta posições. Para a décima primeira e décima segunda posições ocorreu uma nova queda para valores próximos ao da terceira posição ($H=48,54$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 16.

Quando analisada em relação à fase de desenvolvimento a quantidade de glicose aumentou cerca de 1,5 vezes dos brotos para as folhas expandindo, diminuiu 3,3 vezes destas para a fase de maturidade e diminuiu cerca de 1,2 vezes desta para a fase de senescência ($H=43,60$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 17.

A quantidade de frutose aumentou cerca de 5 vezes dos brotos para as folhas expandindo e diminuiu cerca de 3,3 vezes para a fase de maturidade. Esta fase não se diferenciou dos brotos, nem da fase de senescência. A fase de senescência, por outro lado, foi significativamente diferente dos brotos ($H=30,56$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 17.

A quantidade de sacarose por sua vez aumentou cerca de 1,2 vezes da fase de maturidade para a fase de senescência. Tanto os brotos quanto as folhas expandindo não se diferenciaram das fases descritas acima ($H=8$ e $P=0,046$) como pode ser visto na Tabela 17.

A quantidade de amido aumentou cerca de 5,2 vezes dos brotos para as folhas expandindo e aumentou novamente de 1,7 vezes destas para as folhas maduras. Para as folhas senescentes ocorreu uma queda para valores que não se dissociaram dos brotos e das folhas expandindo ($H=36,91$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 17.

Tabela 16: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg MS}$) presentes nas folhas do tratamento de 32mM, distribuídos de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na

copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N= 7 da terceira à décima posição, N=6 para a décima primeira posição, N= 5 para a décima segunda posição e N=1 para a segunda posição. Devido a este fato a segunda posição foi retirada desta análise. Os números entre parênteses representam a partição dos carboidratos não estruturais para as posições.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2ª Posição	24,0	*	20,8	27,3
3ª Posição	27,8 $\pm$ 8,16 ^B (39,5%)	4,2 $\pm$ 4,57 ^A (3,7%)	18,3 $\pm$ 4,81 ^B (31,1%)	22,0 $\pm$ 18,09 ^A (25,8%)
4ª Posição	46,0 $\pm$ 6,70 ^C (29,0%)	15,3 $\pm$ 4,68 ^B (9,7%)	17,25 $\pm$ 8,23 ^A (10,2%)	86,1 $\pm$ 31,20 ^B (51,2%)
5ª Posição	22,2 $\pm$ 8,04 ^A (12,3%)	6,5 $\pm$ 4,83 ^A (3,8%)	22,2 $\pm$ 4,74 ^A (12,9%)	132,8 $\pm$ 43,40 ^B (71,1%)
6ª Posição	13,3 $\pm$ 4,54 ^A (7,3%)	4,8 $\pm$ 4,14 ^A (2,4%)	21,9 $\pm$ 3,55 ^A (12,0%)	158,4 $\pm$ 55,20 ^C (78,4%)
7ª Posição	11,4 $\pm$ 3,19 ^D (6,0%)	2,8 $\pm$ 1,10 ^A (1,4%)	19,0 $\pm$ 3,58 ^A (9,8%)	175,7 $\pm$ 75,5 ^C (82,9%)
8ª Posição	10,1 $\pm$ 1,22 ^D (4,7%)	2,4 $\pm$ 0,71 ^A (1,1%)	19,3 $\pm$ 3,05 ^A (8,8%)	197,9 $\pm$ 60,5 ^C (85,4%)
9ª Posição	11,2 $\pm$ 1,79 ^D (9,2%)	3,1 $\pm$ 1,15 ^A (2,3%)	20,5 $\pm$ 2,38 ^A (16,8%)	113,2 $\pm$ 64,4 ^B (71,7%)
10ª Posição	11,3 $\pm$ 5,55 ^D (14,7%)	3,6 $\pm$ 2,55 ^A (4,5%)	21,1 $\pm$ 11,02 ^A (27,4%)	65,9 $\pm$ 54,30 ^B (53,43%)
11ª Posição	18,2 $\pm$ 4,09 ^A (24,4%)	6,1 $\pm$ 1,14 ^A (8,6%)	26,4 $\pm$ 9,90 ^A (33,8%)	27,9 $\pm$ 17,32 ^A (33,3%)
12ª Posição	9,4 $\pm$ 5,69 ^D (29,5%)	3,1 $\pm$ 2,92 ^A (9,3%)	15,3 $\pm$ 9,81 ^A (48,2%)	9,67 $\pm$ 11,78 ^A (13,0%)

Tabela 17: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes nas folhas do tratamento de 32mM, distribuídos de acordo com a fase fenológica. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=36 para os brotos, N=14 para a fase de expansão, N=26 para a fase de maturidade e N=21 para a fase de senescência.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
Brotos	24,2 $\pm$ 3,00 ^A	2,1 $\pm$ 0,56 ^A	20,8 $\pm$ 2,38 ^{AB}	18,2 $\pm$ 15,96 ^A
Expansão	37,3 $\pm$ 11,99 ^B	10,8 $\pm$ 6,24 ^B	18,8 $\pm$ 7,43 ^{AB}	95,9 $\pm$ 48,90 ^B
Maturidade	11,1 $\pm$ 3,85 ^C	3,6 $\pm$ 3,65 ^{AC}	18,7 $\pm$ 4,72 ^A	166,4 $\pm$ 67,80 ^C
Senescência	14,1 $\pm$ 3,97 ^D	4,6 $\pm$ 1,94 ^C	23,8 $\pm$ 6,97 ^B	51,2 $\pm$ 50,10 ^{AB}

A quantidade da clorofila a aumentou da quarta para a quinta posição e permaneceu constante da sexta até a nona posição. As posições três, dez, onze e doze devido à alta variância não se separaram destes dois grupos ($H=29,83$ e $P < 0,001$). Para a clorofila b, a terceira, quarta, quinta e sexta posições não apresentam diferenças entre si, porém, a sétima, oitava e nona posições são maiores do que a terceira e quarta posições. As posições dez, onze e doze também não se distinguiram de nenhuma outra posição, como pode ser visto na Tabela 18.

Tabela 18: Quantidade de clorofila a e b (nmol cm⁻²) presente nas folhas do tratamento de 32mM, distribuída de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=2 para a terceira posição, N=5 para a sexta, décima primeira e décima segunda posições e N= 7 para a quarta, quinta, sétima, oitava, nona e décima posições.

	Clorofila a	Clorofila b
3ª Posição	25,4 $\pm$ 1,22 ^{AB}	7,5 $\pm$ 0,24 ^A
4ª Posição	29,1 $\pm$ 3,57 ^A	7,8 $\pm$ 0,99 ^A
5ª Posição	37,1 $\pm$ 4,70 ^B	10,8 $\pm$ 2,82 ^{AB}
6ª Posição	41,8 $\pm$ 2,44 ^B	11,8 $\pm$ 2,82 ^{AB}
7ª Posição	41,3 $\pm$ 1,32 ^B	10,8 $\pm$ 0,94 ^B
8ª Posição	42,7 $\pm$ 3,43 ^B	11,8 $\pm$ 0,89 ^B
9ª Posição	40,0 $\pm$ 5,88 ^B	12,2 $\pm$ 3,06 ^B
10ª Posição	31,5 $\pm$ 14,34 ^{AB}	9,9 $\pm$ 3,67 ^{AB}
11ª Posição	25,4 $\pm$ 10,81 ^{AB}	8,9 $\pm$ 2,91 ^{AB}
12ª Posição	26,8 $\pm$ 11,56 ^{AB}	11,3 $\pm$ 4,74 ^{AB}

2.4.6.6.O tratamento de 64 mM

A quantidade de glicose permaneceu constante da terceira à quinta posição, caiu cerca de 2,1 vezes destas para a sexta posição e permaneceu nestes valores para a sétima posição. Da oitava à décima quarta posição ocorreu uma queda de aproximadamente 1,8 vezes em relação à sétima posição (H=62,33 e P<0,001), como pode ser visto na Tabela 19.

A quantidade de frutose praticamente triplicou da terceira para a quarta posição e permaneceu nestes valores para a quinta posição. Para a sexta e sétima posições ocorreu uma queda de aproximadamente duas vezes em relação à quarta e à quinta posições. Para a oitava e décima primeira posição ocorreu uma queda de aproximadamente 1,4 vezes e para as demais posições ocorreu um aumento para valores próximos aos da terceira posição (H=49,41 e P<0,001) como pode ser visto na Tabela 19.

A quantidade de sacarose diminuiu neste caso cerca de 2,9 vezes da terceira para a quarta e quinta posições. Da sexta à décima primeira posição e a décima terceira e a décima quinta posições, tiveram um aumento de 1,6 vezes em relação à quarta e à quinta posições. A décima segunda e a décima quarta posições possuíam valores próximos ao da terceira posição ($H=51,65$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 19.

A quantidade de amido permaneceu praticamente constante da terceira para a quarta posição, aumentou cerca de 3,8 vezes destas para a quinta e sexta posições e aumentou cerca de 1,7 vezes destas para a sétima, oitava, nona e décima posições. Para a décima primeira posição há uma diminuição para valores próximos da quinta e sexta posições e para as demais posições ocorreu uma diminuição para valores próximos aos da terceira e quarta posições ($H=68,30$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 19.

Quando comparada em relação às fases fenológicas a glicose permaneceu constante entre os brotos e as folhas expandindo, diminuiu 3,4 vezes destas para as folhas maduras e permaneceu em valores aproximados para as folhas senescentes ($H=56,34$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 20.

A quantidade de frutose apresentou o mesmo padrão de diferenças da quantidade de glicose, porém o aumento foi de 4,6 vezes dos brotos e expandindo para as folhas maduras e senescentes ($H=44,97$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 20.

A quantidade de sacarose presente nos brotos não diferiu de nenhuma das outras fases. A quantidade de sacarose aumentou cerca de 1,6 vezes das folhas expandindo para as folhas maduras e aumentou novamente cerca de 1,5 vezes destas para as folhas senescentes ($H=36,59$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 20.

A quantidade de amido triplicou dos brotos para as folhas expandindo e aumentou novamente cerca de 2,3 vezes destas para as folhas maduras. Das folhas maduras ocorreu uma queda para valores próximos aos das folhas em expansão para as folhas senescentes, como pode ser visto na Tabela 20.

Tabela 19: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes nas folhas do tratamento de 64mM, distribuídos de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N= 8 da quarta à décima segunda posição, N=7 para a décima terceira e décima quarta posição, N= 4 para a décima terceira posição e N=2 para a décima quinta posição. Devido a este fato a décima quinta posição foi retirada desta análise. Os números entre parênteses representam a partição dos carboidratos não estruturais para as posições.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
3ª Posição	33,3 $\pm$ 14,05 ^A (44,1%)	3,7 $\pm$ 2,60 ^A (4,8%)	19,4 $\pm$ 6,50 ^A (26,8%)	17,6 $\pm$ 6,35 ^A (24,3%)
4ª Posição	45,3 $\pm$ 8,19 ^A (50,2%)	11,7 $\pm$ 3,00 ^B (12,9%)	6,5 $\pm$ 4,26 ^B (7,4%)	26,8 $\pm$ 5,98 ^A (29,5%)
5ª Posição	41,69 $\pm$ 10,46 ^A (37,6%)	10,6 $\pm$ 4,31 ^B (9,9%)	7,0 $\pm$ 3,69 ^B (5,9%)	59,1 $\pm$ 31,00 ^B (84,7%)
6ª Posição	18,98 $\pm$ 7,24 ^B (16,1%)	3,1 $\pm$ 1,79 ^A (2,6%)	8,18 $\pm$ 2,52 ^C (6,7%)	100,2 $\pm$ 43,30 ^B (74,7%)
7ª Posição	14,2 $\pm$ 2,05 ^B (9,9%)	2,1 $\pm$ 0,65 ^A (1,5%)	9,5 $\pm$ 2,04 ^C (6,5%)	121,1 $\pm$ 22,91 ^C (82,1%)
8ª Posição	11,0 $\pm$ 2,32 ^C (6,2%)	1,6 $\pm$ 0,41 ^C (0,9%)	8,8 $\pm$ 1,40 ^C (5,1%)	158,0 $\pm$ 28,3 ^C (87,8%)
9ª Posição	11,1 $\pm$ 1,87 ^C (7,8%)	1,7 $\pm$ 0,32 ^C (1,2%)	9,7 $\pm$ 2,11 ^C (6,6%)	129,8 $\pm$ 33,70 ^C (84,3%)
10ª Posição	9,9 $\pm$ 1,91 ^C (6,1%)	1,7 $\pm$ 0,81 ^C (1,1%)	11,5 $\pm$ 2,53 ^C (7,0%)	150,7 $\pm$ 40,80 ^C (85,8%)
11ª Posição	10,3 $\pm$ 2,05 ^C (9,8%)	1,8 $\pm$ 0,49 ^C (1,6%)	11,6 $\pm$ 2,01 ^C (11,6%)	89,9 $\pm$ 33,8 ^B (77,0%)
12ª Posição	11,6 $\pm$ 1,68 ^C (12,6%)	2,5 $\pm$ 1,14 ^A (3,6%)	15,2 $\pm$ 2,86 ^A (22,5%)	49,5 $\pm$ 29,5 ^A (57,8%)
13ª Posição	10,3 $\pm$ 2,09 ^C (20,4%)	2,7 $\pm$ 2,08 ^A (5,8%)	13,4 $\pm$ 2,94 ^C (24,9%)	36,2 $\pm$ 32,40 ^A (48,9%)
14ª Posição	10,0 $\pm$ 1,58 ^C (20,0%)	1,9 $\pm$ 0,79 ^A (3,4%)	16,6 $\pm$ 1,33 ^A (41,3%)	32,9 $\pm$ 29,80 ^A (42,5%)
15ª Posição	9,2 $\pm$ 0,81	2,2 $\pm$ 1,22	10,7 $\pm$ 13,52	9,7 $\pm$ 12,21

Tabela 20: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes nas folhas do tratamento de 64mM, distribuídos de acordo com a fase fenológica. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=8 para os brotos, N=18 para a fase de expansão, N=37 para a fase de maturidade e N=29 para a fase de senescência.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
Brotos	35,7 $\pm$ 9,75 ^A	6,8 $\pm$ 4,23 ^A	13,9 $\pm$ 7,99 ^{ABC}	20,8 $\pm$ 7,09 ^A
Expansão	37,5 $\pm$ 14,19 ^A	8,9 $\pm$ 4,99 ^A	6,9 $\pm$ 3,09 ^A	59,9 $\pm$ 28,96 ^B
Maturidade	11,4 $\pm$ 2,67 ^B	1,8 $\pm$ 0,59 ^B	9,9 $\pm$ 2,32 ^B	139,6 $\pm$ 33,41 ^C
Senescência	10,5 $\pm$ 1,76 ^B	2,2 $\pm$ 1,28 ^B	14,2 $\pm$ 3,95 ^C	42,9 $\pm$ 31,61 ^B

A quantidade de clorofila a permaneceu constante da quarta para a quinta posição e aumentou para a sexta posição. Da sexta posição ocorreu um aumento para a nona, décima e décima primeira posição. As demais posições não diferenciaram-se dessas duas últimas, portanto, a quantidade de clorofila a aumentou conforme as posições aumentaram e permaneceu em valores altos ($H=49,71$ e $P<0,001$). A clorofila b, por outro lado, separou as posições em três grupos: o primeiro composto pela quarta e quinta posições, seguido pela sexta e sétima posições formando o segundo grupo e a nona posição formando o terceiro grupo, com os maiores valores para este tratamento. As posições restantes possuíram valores intermediários entre o segundo e terceiro grupos, ficando, portanto, indiferenciada destes, como pode ser visto na Tabela 21.

Tabela 21: Quantidade de clorofila a e b (nmol cm^{-2}) presente nas folhas do tratamento de 64mM, distribuída de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=4 para a quarta posição, N=5 para a décima quarta posição, N= 6 para a sexta posição, N=8 para a quinta e para a sétima à décima terceira posição. N=1 para a décima quinta posição e, por este motivo, ela foi retirada desta análise.

	Clorofila a	Clorofila b
4ª Posição	23,5 ± 3,00 ^A	5,6 ± 1,13 ^A
5ª Posição	26,8 ± 5,50 ^A	7,1 ± 1,36 ^A
6ª Posição	42,3 ± 3,76 ^B	10,3 ± 1,13 ^B
7ª Posição	47,0 ± 5,17 ^{BC}	11,8 ± 1,46 ^B
8ª Posição	50,3 ± 5,17 ^{BC}	12,7 ± 1,03 ^{BC}
9ª Posição	52,6 ± 2,21 ^C	14,1 ± 1,03 ^C
10ª Posição	51,7 ± 2,44 ^C	13,1 ± 1,08 ^{BC}
11ª Posição	52,6 ± 2,82 ^C	14,6 ± 1,18 ^{BC}
12ª Posição	50,3 ± 6,20 ^{BC}	14,1 ± 2,35 ^{BC}
13ª Posição	48,9 ± 6,40 ^{BC}	13,2 ± 1,83 ^{BC}
14ª Posição	44,6 ± 7,29 ^{BC}	13,2 ± 1,60 ^{BC}
15ª Posição	58,8	16,0

2.4.7. Análise entre os tratamentos por posição

O tratamento de 64mM não apresentou a segunda posição e o tratamento de 32mM apresentou apenas uma folha nesta posição, devido a estes fatos estes tratamentos foram retirados da análise desta posição.

A quantidade de glicose do tratamento de 8mM apresentou o maior valor, porém, este se separou apenas do tratamento de 4mM, enquanto os tratamentos de 16mM e 2mM, não se separaram destes dois tratamentos. Comparando os dois tratamentos que se separaram, o tratamento de 8mM apresentou valores 2,3 vezes maiores que o tratamento de 4mM ($H=11,01$ e $P=0,026$) como pode ser visto na Tabela 22.

A quantidade de frutose apresentou o mesmo padrão da glicose, porém neste caso, o tratamento de 8mM apresentou valores 3,3 vezes maiores do que o tratamento de 4mM ($H=11,35$ e $P=0,023$) como pode ser visto na Tabela 22.

A quantidade de sacarose apresentou valores iguais para os tratamentos de 2mM e 4mM, e os menores valores para o tratamento de 8Mm. O tratamento de 16mM não se separou de nenhum destes. Comparando os valores do tratamento de 2mM e de 4mM com o de 8mM, ocorreu uma diminuição cerca de 12 vezes ($H=10,27$ e $P=0,036$) como pode ser visto na Tabela 22.

A quantidade de amido apresentou diferenças entre os tratamentos, porém, os testes múltiplos falharam ao identificar as diferenças ($H=10,68$ e $P=0,030$) como pode ser visto na Tabela 22.

Tabela 22: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes na segunda posição. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$ N=4 para o tratamento de 8mM e o de 16mM, N=9 para o tratamento de 4mM, N=5 para o tratamento de 2mM e N=1 para o tratamento de 32mM, e por este motivo foi retirado da análise.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2 mM	38,2 $\pm$ 15,93 ^{AB}	12,8 $\pm$ 5,47 ^{AB}	10,3 $\pm$ 6,08 ^A	94,9 $\pm$ 31,40
4 mM	30,1 $\pm$ 6,96 ^A	7,3 $\pm$ 5,36 ^A	14,0 $\pm$ 9,71 ^A	74,9 $\pm$ 34,50
8 mM	69,6 $\pm$ 15,01 ^B	23,1 $\pm$ 5,79 ^B	1,0 $\pm$ 1,52 ^B	91,8 $\pm$ 15,3
16 mM	35,4 $\pm$ 15,55 ^{AB}	9,7 $\pm$ 8,63 ^{AB}	17,6 $\pm$ 12,90 ^{AB}	37,8 $\pm$ 18,01
32 mM	24,1	*	20,8	27,4

A quantidade de glicose apresentou diferenças entre os tratamentos para a terceira posição (H=21,46 e P=0,01), a principal diferença foi entre o tratamento de 16mM que apresentou os maiores valores e os tratamentos de 2mM e 4mM que apresentaram menores valores, sendo que o tratamento de 16mM apresentou valores 2,5 maiores. Os outros três tratamentos não se separaram destes, como pode ser visto na Tabela 23.

A quantidade de frutose apresentou o mesmo valor para os tratamentos de 2mM, 4mM, 32mM e 64mM, sendo que estes diferiram do tratamento de 16mM que apresentou valores 2,8 maiores. O tratamento de 8mM não se separou de nenhum (H=20,30 e P=0,001) como pode ser visto na Tabela 23.

A quantidade de sacarose apresentou diferenças entre os tratamentos de 4mM que apresentou valores 2 vezes maiores que o tratamento de 8mM, os outros tratamentos não se separaram destes (H=14,27 e P=0,014) como pode ser visto na Tabela 23.

A quantidade de amido apresentou diferenças entre dois blocos. O primeiro bloco foi constituído pelos três tratamentos de menor concentração (2mM, 4mM e 8mM) que apresentaram valores 15,2 vezes maiores do que o segundo bloco, constituído pelos dois tratamentos de maior concentração (32mM e 64mM). O tratamento de 16mM não se diferenciou de nenhum tratamento, (H=28,03 e P<0,001), como pode ser visto na Tabela 23.

Tabela 23: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes na terceira posição. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=9 para o tratamento de 16mM, N=7 para o tratamento de 32mM, N=4 para o tratamento de 64mM, N=5 para o tratamento de 8mM, N=9 para o tratamento de 4mM e N=6 para o tratamento de 2mM

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2 mM	$13,9 \pm 5,58^A$	$5,3 \pm 1,84^A$	$17,3 \pm 6,86^{AB}$	$131,5 \pm 45,2^A$
4 mM	$20,5 \pm 6,56^A$	$6,4 \pm 2,14^A$	$23,3 \pm 4,60^A$	$112,4 \pm 24,84^A$
8 mM	$32,1 \pm 13,53^{AB}$	$11,9 \pm 7,31^{AB}$	$11,4 \pm 3,18^B$	$141,9 \pm 48,40^A$
16 mM	$41,8 \pm 15,41^B$	$14,4 \pm 8,24^B$	$14,2 \pm 7,55^{AB}$	$63,1 \pm 35,60^{AB}$
32 mM	$27,8 \pm 8,16^{AB}$	$4,2 \pm 4,57^A$	$18,3 \pm 4,81^{AB}$	$22,0 \pm 18,09^B$
64 mM	$33,3 \pm 14,05^{AB}$	$3,7 \pm 2,60^A$	$19,4 \pm 6,50^{AB}$	$17,6 \pm 6,35^B$

Para a quarta posição a quantidade de glicose aumentou cerca de 1,4 vezes do tratamento de 2mM para o de 4mM, aumentou novamente 1,4 vezes do tratamento de 4mM para o de 8mM e aumentou cerca de 1,8 vezes deste tratamento para os dois tratamentos de maior concentração (32mM e 64mM). O tratamento de 16mM não se diferenciou de nenhum outro ($H=33,43$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 24.

A quantidade de frutose diferiu apenas entre os dois tratamentos de menor concentração (2mM e 4mM) e os dois tratamentos de maior concentração (32mM e 64mM) que apresentaram valores duas vezes maiores do que os outros dois. Os dois tratamentos intermediários (8mM e 16mM) não se separaram ($H=23,90$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 24.

A quantidade de sacarose apresentou diferença entre os dois tratamentos de menor concentração (2mM e 4mM) em relação ao tratamento de 64mM, que apresentou valores cerca de três vezes menores em relação aos dois primeiros tratamentos. Os demais tratamentos não se separaram destes ($H=21,89$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 24.

A quantidade de amido apresentou diferença entre o tratamento de 64mM em relação aos demais, sendo a quantidade de amido 4 vezes menor no tratamento de 64mM ($H=24,41$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 24.

Tabela 24: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes na quarta posição. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=9 para o tratamento de 16mM, N=7 para o tratamento de 32mM, N=8 para o tratamento de 64mM, N=6 para o tratamento de 8mM, N=10 para o tratamento de 4mM e N=6 para o tratamento de 2mM

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2 mM	11,7 $\pm$ 3,66 ^A	5,3 $\pm$ 3,10 ^A	16,9 $\pm$ 4,79 ^A	129,9 $\pm$ 43,3 ^A
4 mM	16,75 $\pm$ 2,50 ^B	6,3 $\pm$ 1,93 ^A	22,2 $\pm$ 5,68 ^A	98,9 $\pm$ 36,00 ^A
8 mM	24,7 $\pm$ 4,51 ^C	9,7 $\pm$ 2,18 ^{AB}	13,9 $\pm$ 4,55 ^{AB}	150,8 $\pm$ 50,90 ^A
16 mM	28,1 $\pm$ 19,38 ^{ABCD}	10,9 $\pm$ 8,13 ^{AB}	13,4 $\pm$ 6,53 ^{AB}	88,0 $\pm$ 35,20 ^A
32 mM	46,0 $\pm$ 6,70 ^D	15,3 $\pm$ 4,68 ^B	17,3 $\pm$ 8,23 ^{AB}	86,1 $\pm$ 31,20 ^A
64 mM	45,3 $\pm$ 8,19 ^D	11,7 $\pm$ 3,00 ^B	6,5 $\pm$ 4,26 ^B	26,8 $\pm$ 5,98 ^B

Para a quinta posição a quantidade de glicose apresentou diferenças entre os tratamentos ($H=31,88$ e $P<0,001$). As diferenças ocorreram em três blocos. O primeiro bloco continha o tratamento de 2mM, que possuía valores 2,6 vezes menores do que os valores apresentados pelo segundo bloco, que continha os tratamentos de 4mM, 8mM, 16mM e 32mM. Este bloco por sua vez, apresentou valores cerca de 2 vezes menores do que o tratamento de 64mM, como pode ser visto na Tabela 25.

A quantidade de frutose apresentou diferenças entre os tratamentos ($H=21,63$ e $P=0,001$). As diferenças ocorreram em três blocos, o tratamento de 2mM, constituiu o primeiro bloco e possuía valores 2,4 vezes menores do que os valores apresentados pelo tratamento de 4mM, que constituía o segundo bloco. Este tratamento, por sua vez, apresentou valores cerca de 1,25 vezes menores do que os tratamentos de 16mM e 64mM, que constituíam o terceiro bloco. O tratamento de 8mM não se separou do tratamento de 4mM e do bloco formado pelos tratamentos de 16mM e 64mM. O tratamento de 32mM não apresentou diferença em relação a nenhum tratamento, como pode ser visto na Tabela 25

A quantidade de sacarose apresentou diferenças entre o tratamento de 64mM e um bloco composto pelos tratamentos de 2mM, 4mM, 16mM e 32mM, que apresentou valores 2,6 vezes maiores. O tratamento de 8mM não se

separou de nenhum tratamento ($H=26,38$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 25.

A quantidade de amido apresentou diferença entre o tratamento de 64mM e o bloco formado pelos tratamentos de 32mM e 16mM, que apresentou valores 2 vezes maiores. Os demais tratamentos não se diferenciaram destes dois blocos ($H=12,40$ e $P<0,030$) como pode ser visto na Tabela 25.

Tabela 25: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes na quinta posição. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. $N=9$ para o tratamento de 16mM, $N=7$ para o tratamento de 32mM, $N=8$ para o tratamento de 64mM, $N=5$ para o tratamento de 8mM, $N=9$ para o tratamento de 4mM e $N=6$ para o tratamento de 2mM

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2 mM	$7,8 \pm 1,73^A$	$3,0 \pm 1,27^A$	$16,3 \pm 3,65^A$	$108,1 \pm 53,70^{AB}$
4 mM	$15,6 \pm 4,25^B$	$5,8 \pm 1,67^B$	$16,5 \pm 3,85^A$	$99,2 \pm 32,70^{AB}$
8 mM	$20,2 \pm 2,99^B$	$8,1 \pm 1,49^{BC}$	$10,4 \pm 3,84^{AB}$	$134,1 \pm 63,70^{AB}$
16 mM	$21,1 \pm 2,68^B$	$8,7 \pm 1,89^C$	$18,2 \pm 3,86^A$	$112,5 \pm 31,20^A$
32 mM	$22,2 \pm 8,04^B$	$6,5 \pm 4,83^{ABC}$	$22,2 \pm 4,74^A$	$132,8 \pm 43,40^A$
64 mM	$41,7 \pm 10,46^C$	$10,6 \pm 4,31^C$	$7,0 \pm 3,69^B$	$59,1 \pm 31,00^B$

A quantidade de glicose apresentou diferenças entre os tratamentos para a sexta posição ($H=19,80$ e $P<0,001$). As diferenças ocorreram entre dois blocos. O primeiro bloco, formado pelos tratamentos de 2mM e de 4mM, foi diferente do tratamento de 8mM, que constituía o segundo bloco, e apresentou valores cerca de 1,6 vezes maiores do que os do primeiro bloco. Os tratamentos restantes, não apresentaram diferenças significativas em relação a estes dois blocos, como pode ser visto na Tabela 26.

A quantidade de frutose também apresentou diferenças entre os tratamentos e estas ocorreram em dois blocos ($H=20,70$ e $P<0,001$). O primeiro bloco formado pelo tratamento de 2mM, 4mM e 64mM foi diferente do tratamento de 8mM que apresentou valores cerca de 2,2 vezes maiores. Os dois tratamentos restantes não apresentaram diferenças significativas em relação a estes dois blocos, como pode ser visto na Tabela 26

A quantidade de sacarose também apresentou diferenças entre os tratamentos e estas ocorreram em dois blocos (H=25,75 e P<0,001). O primeiro bloco formado pelos tratamentos de 4mM, 16mM e 32mM foi diferente do segundo bloco, formado pelos tratamentos de 8mM e 64mM. O primeiro bloco apresentou valores cerca de 2,1 vezes maiores do que o segundo bloco. O tratamento de 2mM não apresentou diferenças em relação a estes dois blocos, como pode ser visto na Tabela 26.

A quantidade de amido também apresentou diferenças entre os tratamentos e estas ocorreram em dois blocos (H=17,64 e P<0,003). O primeiro bloco formado pelos tratamentos de 2mM e 4mM foi diferente do tratamento de 32mM que apresentou valores 2,2 vezes maiores. Os tratamentos restantes não diferiram de nenhum destes dois blocos, como pode ser visto na Tabela 26.

Tabela 26: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais (µg/mg MS) presentes na sexta posição. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com α =5%. N=9 para o tratamento de 16mM, N=7 para o tratamento de 32mM, N=8 para o tratamento de 64mM, N=6 para o tratamento de 8mM, N=9 para o tratamento de 4mM e N=5 para o tratamento de 2mM

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2 mM	11,5 $\pm$ 3,15 ^A	4,3 $\pm$ 1,51 ^A	19,4 $\pm$ 8,10 ^{AB}	74,2 $\pm$ 18,16 ^A
4 mM	12,9 $\pm$ 1,99 ^A	4,1 $\pm$ 1,64 ^A	19,5 $\pm$ 6,01 ^A	71,1 $\pm$ 26,31 ^A
8 mM	19,5 $\pm$ 1,84 ^B	8,2 $\pm$ 1,58 ^B	10,2 $\pm$ 1,52 ^B	137,3 $\pm$ 48,30 ^{AB}
16 mM	16,2 $\pm$ 3,21 ^{AB}	6,4 $\pm$ 1,59 ^{AB}	15,8 $\pm$ 5,20 ^A	107,0 $\pm$ 33,40 ^{AB}
32 mM	13,3 $\pm$ 4,54 ^{AB}	4,8 $\pm$ 4,14 ^{AB}	21,9 $\pm$ 3,55 ^A	158,4 $\pm$ 55,20 ^B
64 mM	19,0 $\pm$ 7,24 ^{AB}	3,1 $\pm$ 1,80 ^A	8,1 $\pm$ 2,52 ^B	100,2 $\pm$ 43,30 ^{AB}

Para a sétima posição a quantidade de glicose apresentou diferenças entre os tratamentos e estas ocorreram em dois blocos (H=22,36 e P<0,001). O primeiro bloco formado pelos tratamentos de 2mM, 32mM e 64mM foi diferente do segundo bloco, formado pelos tratamentos de 8mM e 16mM. O primeiro bloco apresentou valores cerca de 1,9 vezes menor do que o segundo bloco. O tratamento de 4mM não apresentou diferenças em relação a estes dois blocos, como pode ser visto na Tabela 27.

A quantidade de frutose apresentou diferenças entre os tratamentos e estas ocorreram em três blocos ($H=30,54$ e $P<0,001$). O primeiro bloco formado pelos tratamentos de 2mM e 4mM foi diferente do segundo bloco, formado pelos tratamentos de 8mM e 16mM. O primeiro bloco apresentou valores cerca de 2,3 vezes menores do que o segundo bloco e valores cerca de 1,8 vezes maiores do que o tratamento de 64mM. O segundo bloco apresentou valores cerca de 11 vezes maiores do que o tratamento de 64mM. O tratamento de 32mM não se separou do primeiro bloco e do tratamento de 64mM, como pode ser visto na Tabela 27.

A quantidade de sacarose apresentou diferenças entre os tratamentos e estas ocorreram em dois blocos ($H=22,05$ e $P=0,001$). O primeiro bloco formado pelos tratamentos de 4mM, 16mM e 32mM foi diferente do segundo bloco, formado pelos tratamentos de 8mM e 64mM. O primeiro bloco apresentou valores cerca de 2,1 vezes maiores do que o segundo bloco. O tratamento de 2mM não se separou destes blocos, como pode ser visto na Tabela 27.

A quantidade de amido apresentou diferenças entre os tratamentos e estas ocorreram em dois blocos ($H=22,19$ e $P<0,001$). O primeiro bloco formado pelo tratamento de 4mM, foi diferente do segundo bloco, formado pelos tratamentos de 16mM, 32mM e 64mM. O primeiro bloco apresentou valores cerca de 2,5 vezes maior do que o segundo bloco. Os tratamentos de 2mM e 8mM não se separaram destes blocos, como pode ser visto na Tabela 27.

Tabela 27: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes na sétima posição. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=9 para o tratamento de 16mM, N=7 para o tratamento de 32mM, N=8 para o tratamento de 64mM, N=6 para o tratamento de 8mM, N=7 para o tratamento de 4mM e N=3 para o tratamento de 2mM.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2 mM	$9,6 \pm 2,45^A$	$4,5 \pm 0,51^A$	$15,5 \pm 13,65^{AB}$	$49,6 \pm 51,90^{AB}$
4 mM	$12,9 \pm 5,26^{AB}$	$4,5 \pm 1,89^A$	$15,9 \pm 4,95^A$	$49,2 \pm 9,07^A$
8 mM	$18,8 \pm 0,87^B$	$7,6 \pm 1,27^B$	$8,7 \pm 2,40^B$	$78,0 \pm 34,60^{AB}$
16 mM	$17,6 \pm 2,04^B$	$7,7 \pm 1,92^B$	$15,2 \pm 2,13^A$	$84,4 \pm 31,80^B$
32 mM	$11,4 \pm 3,19^A$	$2,7 \pm 1,10^{AC}$	$19,0 \pm 3,58^A$	$175,7 \pm 75,50^B$
64 mM	$14,2 \pm 2,05^A$	$2,1 \pm 0,65^C$	$9,5 \pm 2,04^B$	$121,1 \pm 22,91^B$

O tratamento de 2mM não apresentou a oitava posição e por isso não está incluído na análise a seguir.

A quantidade de glicose apresentou diferenças entre os tratamentos e estas ocorreram em dois blocos ($H=21,12$ e $P<0,001$). O primeiro bloco formado pelos tratamentos de 8mM e 16mM, foi 1,8 vezes maior do que o tratamento de 32mM, que constituía o segundo bloco. Os tratamentos de 4mM e 64mM não apresentaram diferenças em relação a estes dois blocos, como pode ser visto na Tabela 28.

A quantidade de frutose apresentou diferenças entre os tratamentos e estas ocorreram em dois blocos ($H=24,20$ e $P<0,001$). O primeiro bloco formado pelos tratamentos de 8mM e 16mM, foi diferente do segundo bloco, formado pelos tratamentos de 32mM e 64mM. O primeiro bloco apresentou valores cerca de 3,6 vezes maior do que o segundo bloco. O tratamento de 4mM não se separou dos dois blocos, como pode ser visto na Tabela 28.

A quantidade de sacarose apresentou diferenças entre os tratamentos e estas ocorreram em dois blocos ($H=22,60$ e $P<0,001$). O primeiro bloco formado pelos tratamentos de 4mM, 16mM e 32mM foi 1,9 vezes maior do que o tratamento de 64mM, que constituiu o segundo bloco. O tratamento de 8mM não se separou dos dois blocos, como pode ser visto na Tabela 28.

A quantidade de amido apresentou diferenças entre os tratamentos e estas ocorreram em dois blocos (H=23,47 e P<0,001). O primeiro bloco formado pelos tratamentos de menor concentração (4mM, 8mM e 16mM) foi diferente do segundo bloco, formado pelos tratamentos de maior concentração (32mM e 64mM). O primeiro bloco apresentou valores cerca de 4 vezes menor do que o segundo bloco, como pode ser visto na Tabela 28.

Tabela 28: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes na oitava posição. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=9 para o tratamento de 16mM, N=7 para o tratamento de 32mM, N=8 para o tratamento de 64mM, N=5 para o tratamento de 8mM e N=3 para o tratamento de 4mM.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
4 mM	$14,8 \pm 4,29^{AB}$	$5,4 \pm 2,80^{AB}$	$17,5 \pm 1,83^A$	$38,8 \pm 10,21^A$
8 mM	$18,0 \pm 4,23^A$	$7,0 \pm 1,93^A$	$9,5 \pm 5,94^{AB}$	$45,0 \pm 28,50^A$
16 mM	$17,7 \pm 4,30^A$	$7,7 \pm 3,93^A$	$14,1 \pm 2,52^A$	$52,9 \pm 28,77^A$
32 mM	$10,1 \pm 1,22^B$	$2,4 \pm 0,71^B$	$19,3 \pm 3,05^A$	$197,9 \pm 60,60^B$
64 mM	$11,0 \pm 2,32^{AB}$	$1,6 \pm 0,41^B$	$8,8 \pm 1,40^B$	$158,0 \pm 28,30^B$

Os tratamentos de 2mM e 4mM não apresentaram a nona posição e por isso não estão incluídos na análise a seguir.

A quantidade de glicose apresentou diferenças entre os tratamentos e estas ocorreram em dois blocos (H=11,61 e P=0,009). O primeiro bloco formado pelo tratamento de 16mM foi 1,4 vezes maior do que o segundo grupo, formado pelos tratamentos de 32mM e 64mM. O tratamento de 8mM não apresentou diferenças em relação a estes dois blocos, como pode ser visto na Tabela 29.

A quantidade de frutose também apresentou diferenças entre os tratamentos (H=18,52 e P<0,001). O tratamento de 16mM apresentou os maiores valores e foi cerca de 2 vezes maior do que o tratamento de 32mM e cerca de 3,8 vezes maior do que o tratamento de 64mM. O tratamento de 32mM, por sua vez, foi cerca de 2 vezes maior do que o tratamento de 64mM. O tratamento de 8mM não apresentou diferença em relação aos três tratamentos, como pode ser visto na Tabela 29.

A quantidade de sacarose também apresentou diferenças entre os tratamentos ($H=15,90$ e $P=0,001$). O tratamento de 32mM apresentou os maiores valores e foi cerca de 1,4 vezes maior do que o tratamento de 16mM e cerca de 2 vezes maior do que o tratamento de 64mM. O tratamento de 16mM, por sua vez, foi cerca de 1,5 vezes maior do que o tratamento de 64mM. O tratamento de 8mM não apresentou diferença em relação aos três tratamentos, como pode ser visto na Tabela 29.

A quantidade de amido também apresentou diferenças entre os tratamentos ($H=17,76$ e $P<0,001$). Os tratamentos de 32mM e 64mM, foram iguais entre si e apresentaram os maiores valores. Também foram cerca de 6 vezes maiores do que os tratamentos de 16mM e 8mM, que não apresentaram diferenças entre si, como pode ser visto na Tabela 29.

Tabela 29: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes na nona posição. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. $N=9$ para o tratamento de 16mM, $N=7$ para o tratamento de 32mM, $N=8$ para o tratamento de 64mM e $N=3$ para o tratamento de 8mM.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
8 mM	$14,1 \pm 3,62^{AB}$	$4,5 \pm 2,85^{ABC}$	$5,1 \pm 7,42^{ABC}$	$12,7 \pm 5,76^A$
16 mM	$15,9 \pm 2,69^A$	$6,2 \pm 1,50^A$	$15,0 \pm 6,38^A$	$27,2 \pm 16,91^A$
32 mM	$11,2 \pm 1,79^B$	$3,1 \pm 1,15^B$	$20,6 \pm 2,38^B$	$113,2 \pm 64,40^B$
64 mM	$11,1 \pm 1,87^B$	$1,7 \pm 0,32^C$	$9,7 \pm 2,11^C$	$129,8 \pm 33,70^B$

Os tratamentos de 2mM e 4mM não apresentaram a décima posição, o tratamento de 8mM apresentou apenas uma folha na décima posição e por isso não estão incluídos na análise a seguir.

A quantidade de glicose e de sacarose não apresentou diferenças entre os tratamentos ($H=5,32$ e $P=0,148$; $H=7$ e $P=0,072$, respectivamente), como pode ser visto na Tabela 30.

A quantidade de frutose foi maior para o tratamento de 16mM e foi cerca de 3,8 vezes maior do que o tratamento de 64mM. O tratamento de 32mM não se

separou de nenhum destes ($H=9,05$ e $P=0,029$) como pode ser visto na Tabela 30.

A quantidade de amido foi diferente para os três tratamentos ($H=14,95$ e $P=0,002$). O tratamento de 64mM apresentou os maiores valores, sendo cerca de 2,3 vezes maior do que o tratamento de 32mM e cerca de 19 vezes maior do que o tratamento de 16mM. O tratamento de 32mM, por sua vez, foi cerca de 8,3 vezes maior do que o tratamento de 16mM, que apresentou os menores valores, como pode ser visto na Tabela 30.

Tabela 30: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes na décima posição. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. $N=6$ para o tratamento de 16mM, $N=7$ para o tratamento de 32mM, $N=8$ para o tratamento de 64mM e $N=1$ para o tratamento de 8mM, devido a este fato, o tratamento de 8mM foi retirado da análise.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
8 mM	12,1	3,6	0,3	6,8
16 mM	$14,5 \pm 6,66^A$	$6,5 \pm 2,61^A$	$10,2 \pm 8,92^A$	$7,62 \pm 11,52^A$
32 mM	$11,3 \pm 5,55^A$	$3,6 \pm 2,55^{AB}$	$21,1 \pm 11,02^B$	$65,9 \pm 54,30^B$
64 mM	$9,9 \pm 1,91^A$	$1,7 \pm 0,81^B$	$11,5 \pm 2,53^A$	$150,7 \pm 40,80^C$

Os tratamentos de 2mM, 4mM e 8mM não apresentaram a décima primeira posição, e por isso não estão incluídos na análise a seguir.

A quantidade de glicose foi maior para o tratamento de 32mM e cerca de 1,8 vezes maior do que o tratamento de 64mM. O tratamento de 16mM não apresentou diferença dos outros dois tratamentos ($H=12,32$ e $P=0,002$) como pode ser visto na Tabela 31.

A quantidade de frutose também foi maior no tratamento de 32mM e cerca de 3,9 vezes maior do que os tratamentos de 16mM e 64mM, os quais não apresentaram diferenças entre si ($H=10,70$ e $P=0,005$) como pode ser visto na Tabela 31.

A quantidade de sacarose foi diferente nos três tratamentos. O tratamento de 32mM novamente apresentou maiores valores e foi cerca de 2,3 vezes maior do que o tratamento de 64mM e cerca de 17,6 vezes maior do que o

tratamento de 16mM. O tratamento de 64mM, por sua vez, foi 7,7 vezes maior do que o tratamento de 16mM ($H=11,75$ e $P=0,003$) como pode ser visto na Tabela 31.

A quantidade de amido foi maior no tratamento de 64mM e cerca de 5,1 vezes maior do que os tratamentos de 16mM e 32mM, os quais não apresentaram diferenças entre si ($H=11,17$ e $P=0,004$) como pode ser visto na Tabela 31.

Tabela 31: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes na décima primeira posição. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha=5\%$. $N=2$ para o tratamento de 16mM, $N=6$ para o tratamento de 32mM e $N=8$ para o tratamento de 64mM.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
16 mM	$4,3 \pm 3,74^{AB}$	$1,5 \pm 0,09^A$	$1,5 \pm 0,55^A$	$6,6 \pm 1,23^A$
32 mM	$18,2 \pm 4,09^A$	$6,1 \pm 1,14^B$	$26,4 \pm 9,90^B$	$27,8 \pm 17,32^A$
64 mM	$10,3 \pm 2,05^B$	$1,8 \pm 0,49^A$	$11,6 \pm 2,01^C$	$89,9 \pm 33,80^B$

Os tratamentos de 2mM, 4mM, 8mM e 16mM não apresentaram a décima segunda posição, e por isso não estão incluídos na análise a seguir.

A quantidade de glicose, frutose e sacarose não apresentaram diferença entre os dois tratamentos ($H=0,54$ e $P=0,464$; $H=0,09$ e $P=0,77$; $H=0,34$ e $P=0,558$, respectivamente). A quantidade de amido, por outro lado, foi cerca de 5 vezes maior no tratamento de 64mM em relação ao tratamento de 32mM ($H=7,74$ e $P=0,005$) como pode ser visto na Tabela 32.

Tabela 32: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes na décima segunda posição. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha=5\%$. $N=8$ para o tratamento de 64mM e $N=5$ para o tratamento de 32mM.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
32 mM	$9,4 \pm 5,69^A$	$3,1 \pm 2,92^A$	$15,3 \pm 9,81^A$	$9,67 \pm 11,78^A$
64 mM	$11,6 \pm 1,68^A$	$2,5 \pm 1,14^A$	$15,2 \pm 2,86^A$	$49,5 \pm 29,5^B$

2.4.8. Análise entre os tratamentos por fases fenológicas

Os brotos só foram analisados nos tratamentos de 16mM, 32mM e 64mM pois foi somente nestes tratamentos que houve massa suficiente para realizarmos as análises de açúcar.

A quantidade de glicose presente nos brotos foi maior no tratamento de 64mM, sendo cerca de 1,4 vezes maior do que no tratamento de 32mM. Os valores do tratamento de 16mM não se diferenciaram destes dois tratamentos ($H=6,93$ e $P=0,031$) como pode ser visto na Tabela 33.

A quantidade de frutose, sacarose e amido não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos ($H=5,18$ e $P=0,075$; $H=5,18$ e $P=0,051$; $H=0,15$ e $P=0,928$ respectivamente) como pode ser visto na Tabela 33.

Tabela 33: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes nos brotos. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. $N=3$ para o tratamento de 16mM, $N=6$ para o tratamento de 32mM e $N=8$ para o tratamento de 64mM.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
16 mM	$21,9 \pm 6,32^{AB}$	$3,2 \pm 0,66^A$	$28,6 \pm 7,93^A$	$22,9 \pm 1,78^A$
32 mM	$24,2 \pm 3,00^A$	$2,1 \pm 0,56^A$	$20,8 \pm 2,38^A$	$18,21 \pm 15,96^A$
64 mM	$35,6 \pm 9,75^B$	$6,8 \pm 4,23^A$	$13,9 \pm 7,99^A$	$20,8 \pm 7,09^A$

Para as folhas em expansão a glicose apresentou diferenças entre os tratamentos, dividindo-os em dois grupos. O primeiro grupo contendo os menores valores foi formado pelos tratamentos de 4mM, 32mM e 64mM, estes foram cerca de 1,4 vezes menores do que os apresentados pelo segundo grupo, composto pelo tratamento de 8mM. Os tratamentos de 2mM e 16mM não se diferenciaram destes dois grupos ($H=18,23$ e $P=0,003$). A concentração de frutose apresentou o mesmo padrão descrito para a glicose, porém a diferença entre os dois grupos foi cerca de 2,6 vezes menor ($H=21,00$ e $P=0,001$) como pode ser visto na Tabela 34.

A quantidade de sacarose também dividiu os tratamentos em dois grupos, porém neste caso, o primeiro grupo foi formado pelos tratamentos de 16mM e 64mM. Estes apresentaram valores aproximadamente 1,6 vezes menores do que o valor apresentado pelo tratamento de 32mM, que compõe o segundo grupo. Os três tratamentos restantes (2mM, 4mM e 8mM) não apresentaram diferenças entre estes dois grupos ($H=21,57$ e $P=0,001$) como pode ser visto na Tabela 34.

Diferente dos outros carboidratos não estruturais, o amido não apresentou diferenças entre os tratamentos ($H=10,32$ e $P=0,067$) como pode ser visto na Tabela 34.

Tabela 34: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes nas folhas expandindo. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. $N=10$ para o tratamento de 16mM, $N=14$ para o tratamento de 32mM, $N=18$ para o tratamento de 64mM, $N=5$ para o tratamento de 8mM, $N=7$ para o tratamento de 4mM e $N=4$ para o tratamento de 2mM

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2 mM	$36,1 \pm 17,60^{\text{AB}}$	$12,3 \pm 6,21^{\text{AB}}$	$8,9 \pm 5,98^{\text{AB}}$	$100,5 \pm 33,30^{\text{A}}$
4 mM	$30,0 \pm 7,90^{\text{A}}$	$7,8 \pm 6,11^{\text{A}}$	$12,2 \pm 8,42^{\text{AB}}$	$75,2 \pm 37,8^{\text{A}}$
8 mM	$66,9 \pm 14,38^{\text{B}}$	$23,4 \pm 5,08^{\text{B}}$	$6,1 \pm 7,02^{\text{AB}}$	$89,8 \pm 26,80^{\text{A}}$
16 mM	$48,8 \pm 10,92^{\text{AB}}$	$17,7 \pm 7,04^{\text{AB}}$	$10,7 \pm 4,57^{\text{A}}$	$57,7 \pm 22,01^{\text{A}}$
32 mM	$37,3 \pm 11,99^{\text{A}}$	$10,8 \pm 6,24^{\text{A}}$	$18,8 \pm 7,43^{\text{B}}$	$95,9 \pm 48,90^{\text{A}}$
64 mM	$37,5 \pm 14,19^{\text{A}}$	$8,9 \pm 4,99^{\text{A}}$	$6,9 \pm 3,09^{\text{A}}$	$59,9 \pm 28,96^{\text{A}}$

Para as folhas maduras a glicose novamente dividiu os tratamentos em dois blocos. O primeiro bloco, composto pelos tratamentos de 32mM e 64mM, apresentou os menores valores, cerca de 2,1 vezes menor que o apresentado pelo segundo bloco, composto pelos tratamentos de 4mM, 8mM e 16mM. O tratamento de 2mM não se diferenciou destes dois blocos ($H=52,93$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 35.

A quantidade de frutose dividiu os tratamentos em quatro blocos. O tratamento de 8mM, que constituiu o primeiro bloco, apresentou os maiores valores, sendo cerca de 1,4 vezes maior do que o valor apresentado pelo de

4mM, que constituiu o segundo bloco. Os tratamentos de 2mM e 16mM, não se diferenciaram destes dois primeiros blocos. O terceiro bloco, composto pelo tratamento de 32mM, apresentou valores aproximadamente duas vezes menor do que o tratamento de 4mM. O tratamento de 64mM, que constituiu o quarto bloco, apresentou os menores valores, sendo neste caso, 2,5 menor do que o tratamento de 32mM ($H=62,69$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 35.

A sacarose, por outro lado, dividiu o tratamento em dois blocos. O primeiro, composto pelos tratamentos de 4mM, 16mM e 32mM, apresentou os maiores valores. Estes foram significativamente diferentes do outro bloco, formado pelos tratamentos de 8mM e de 64mM, que apresentaram os menores valores. O tratamento de 2mM apresentou valores intermediários aos valores destes dois blocos, e portanto não se diferenciou destes ($H=53,95$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 35.

A quantidade de amido também dividiu os tratamentos em dois blocos, porém neste caso o primeiro bloco, composto pelos tratamentos de 4mM e 16mM, apresentou os menores valores. O segundo bloco composto pelos tratamentos de 32mM e 64mM, apresentou valores 1,5 vezes maiores do que o apresentado pelo primeiro bloco. Os tratamentos de 2mM e de 8mM não se diferenciaram destes dois blocos ($H=18,61$ e $P=0,002$) como pode ser visto na Tabela 35.

Tabela 35: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes nas folhas maduras. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=9 para o tratamento de 16mM, N=26 para o tratamento de 32mM, N=37 para o tratamento de 64mM, N=7 para o tratamento de 8mM, N=10 para o tratamento de 4mM e N=5 para o tratamento de 2mM

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2 mM	$21,7 \pm 14,73^{\text{AB}}$	$7,4 \pm 4,46^{\text{AB}}$	$15,7 \pm 6,35^{\text{AB}}$	$132,3 \pm 53,60^{\text{AB}}$
4 mM	$23,2 \pm 7,13^{\text{A}}$	$6,6 \pm 1,82^{\text{A}}$	$22,7 \pm 6,73^{\text{A}}$	$104,6 \pm 30,35^{\text{A}}$
8 mM	$26,9 \pm 3,39^{\text{A}}$	$9,5 \pm 2,16^{\text{B}}$	$12,7 \pm 4,95^{\text{B}}$	$145,3 \pm 42,00^{\text{AB}}$
16 mM	$26,5 \pm 12,66^{\text{A}}$	$9,7 \pm 5,14^{\text{AB}}$	$16,1 \pm 3,47^{\text{A}}$	$93,9 \pm 35,90^{\text{A}}$
32 mM	$11,1 \pm 3,85^{\text{B}}$	$3,6 \pm 3,65^{\text{C}}$	$18,7 \pm 4,72^{\text{A}}$	$166,4 \pm 67,80^{\text{B}}$
64 mM	$11,4 \pm 2,67^{\text{B}}$	$1,8 \pm 0,59^{\text{D}}$	$9,8 \pm 2,32^{\text{B}}$	$139,6 \pm 33,42^{\text{B}}$

A quantidade de glicose dividiu os tratamentos em três blocos. O primeiro bloco, composto pelos tratamentos de 2mM e de 64mM, apresentou os menores valores, que foram cerca de 1,4 vezes menores do que os apresentados pelo segundo bloco, composto pelos tratamentos de 4mM e 32mM. O terceiro bloco, composto pelo tratamento de 8mM, apresentou valores cerca de 1,1 vezes maiores do que o apresentado pelo segundo bloco. O tratamento de 16mM não se separou destes últimos dois blocos ($H=83,75$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 36.

A quantidade de frutose também dividiu os tratamentos em três blocos. O primeiro, composto pelos tratamentos de 2mM, de 4mM e de 32mM, apresentou os valores intermediários. Este blocos apresentou valores ao redor de 1,5 vezes menor do que os apresentados pelo segundo bloco, composto pelos tratamentos de 8mM e de 16mM, que apresentaram os maiores valores. O tratamento de 64mM constituiu o terceiro bloco e apresentou os menores valores ($H=87,79$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 36.

A quantidade de sacarose, por outro lado, dividiu os tratamentos em quatro blocos. O primeiro bloco foi constituído pelo tratamento de 32mM, e apresentou os maiores valores. Este tratamento foi cerca de 1,3 vezes maior do que o tratamento de 4mM, que formou o segundo bloco. Os tratamentos de 16mM e de 64mM formaram o terceiro bloco e apresentaram valores cerca de 1,2 vezes menor do que o tratamento de 4mM. O tratamento de 2mM, que constituiu o quarto bloco, apresentou valores intermediários ao segundo e terceiro blocos, portanto, não se diferenciou destes. O tratamento de 8mM apresentou os menores valores, cerca de 1,5 vezes menor do que o apresentado pelo terceiro bloco ($H=68,88$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 36.

O amido, por sua vez, separou os tratamentos em dois grandes blocos. O primeiro bloco composto pelo tratamento de 2mM, apresentou os maiores valores, sendo o dobro do apresentado pelo segundo bloco, formado pelos tratamentos de 32mM e 64mM. Os tratamentos de 4mM, de 8mM e de 16mM, não se diferenciaram destes dois blocos ($H=26,62$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela 36.

Tabela 36: Quantidade relativa de carboidratos não estruturais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ MS) presentes nas folhas senescentes. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=51 para o tratamento de 16mM, N=21 para o tratamento de 32mM, N=29 para o tratamento de 64mM, N=29 para o tratamento de 8mM, N=39 para o tratamento de 4mM e N=22 para o tratamento de 2mM

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2 mM	10,2 $\pm$ 3,18 ^A	4,3 $\pm$ 2,01 ^A	17,5 $\pm$ 6,61 ^{AB}	97,6 $\pm$ 47,5 ^A
4 mM	14,7 $\pm$ 3,74 ^B	5,2 $\pm$ 1,96 ^A	18,8 $\pm$ 5,40 ^A	79,4 $\pm$ 35,12 ^{AB}
8 mM	18,6 $\pm$ 3,32 ^C	7,4 $\pm$ 2,04 ^B	9,2 $\pm$ 4,38 ^C	94,7 $\pm$ 65,90 ^{AB}
16 mM	16,8 $\pm$ 4,59 ^{DC}	7,0 $\pm$ 2,65 ^B	14,5 $\pm$ 5,67 ^B	67,3 $\pm$ 46,82 ^{AB}
32 mM	14,1 $\pm$ 3,93 ^B	4,6 $\pm$ 1,94 ^A	23,8 $\pm$ 6,97 ^D	51,2 $\pm$ 50,10 ^B
64 mM	10,5 $\pm$ 1,76 ^A	2,2 $\pm$ 1,28 ^C	14,2 $\pm$ 3,95 ^B	42,9 $\pm$ 31,61 ^B

2.5.Discussão

A biomassa do final do experimento foi utilizada como um integrador do crescimento ao longo do experimento e pudemos observar (Tabela 3) que conforme aumentamos a concentração de NH_4 aumentamos proporcionalmente a biomassa até o tratamento de 16mM. Apesar dos dois últimos tratamentos aumentarem a biomassa, este aumento não foi proporcional ao aumento da concentração de NH_4 .

Analisando as frações de massa observamos que a fração raiz diminuiu conforme aumentou a concentração de NH_4 , com exceção do tratamento de 4mM e o inverso ocorreu com a fração folha (novamente com exceção do tratamento de 4mM). Este é o resultado esperado para plantas com deficiências de minerais, nas quais os tratamentos com menores concentrações tendem a investir mais na raiz para captar mais deste nutriente escasso. (POORTER & NAGEL 2000)

O tratamento modificou o número de folhas presentes na copa por meio de um aumento na taxa de iniciação das folhas, uma vez que neste experimento a taxa de mortalidade foi praticamente a mesma para todos os tratamentos. Por causa deste efeito a longevidade das folhas aumentou. O aumento na taxa de iniciação seguiu o aumento na fração folha descrito acima.

Em decorrência deste fato, a estrutura vertical da copa foi modificada para os tratamentos. Comparando os dados de fenologia com os dados de posição observamos que a copa, para os tratamentos de 2mM, 4mM, e 8mM, possuía a folha da primeira posição como um broto (como esta possuía pouca massa não está presente nas análises de carboidrato), a folha da segunda posição expandindo, a folha da terceira posição madura e as demais folhas senescentes. O tratamento de 16mM possuía as primeiras duas posições com broto, a terceira posição com folhas expandindo, a quarta e quinta posições ocupadas por folhas maduras, e as demais posições com folhas senescentes.

Para o tratamento de 32mM as três primeiras posições eram ocupadas por folhas na fase de broto, as folhas presentes na quarta e quinta posição estavam expandindo, as folhas das posições seis, sete e oito estavam maduras e as demais folhas senescentes.

Para o tratamento de 64mM as folhas da posição um a quatro eram ocupadas pelos brotos, as folhas de posição quatro a seis eram ocupadas por folhas expandindo, as folhas na posição sete a dez para a maioria das plantas e da sete a onze para algumas das plantas, eram ocupadas por folhas maduras e as demais posições ocupadas por folhas senescentes.

Desta forma, podemos concluir que o principal efeito do tratamento foi aumentar o número de folhas expandindo e maduras em detrimento das folhas senescentes para os dois tratamentos de maior concentração. Esta mudança do desenvolvimento das folhas ao longo das posições é a responsável pelas diferenças encontradas quando os tratamentos são comparados em relação à posição. Devido a este fato iremos focar o resto da discussão nas comparações em relações às fases fenológicas que, neste caso, são melhores indicadores do estado de desenvolvimento das folhas.

Apesar desta mudança de desenvolvimento não ter ficado de acordo com o observado para a primeira folha, que independentemente do tratamento ficou a maior parte da vida senescendo, a segunda e terceira folhas apresentaram um aumento na fase de maturidade em relação à fase de senescência, principalmente para os tratamentos de 32mM e 64m (conforme pode ser observado comparando as Figuras 3 a 8) e podemos, portanto, dizer que esta

mudança no desenvolvimento das folhas foi a responsável pela mudança na estrutura da copa descrita no parágrafo acima.

Comparando os dados de clorofila a e b, surge uma questão interessante: poderíamos estar superestimando a fase de maturidade e subestimando a fase de senescência, uma vez que para a maioria dos tratamentos a quantidade destas clorofilas não diferiu em relação às folhas consideradas maduras e senescentes. Porém, quando os dados de A_{sat} são comparados com as fases fenológicas, fica evidente que na realidade ocorreu o inverso, uma vez que quando as folhas foram consideradas senescentes o valor de A_{sat} estava muito próximo ao valor de A_{max} e a queda brusca da A_{sat} ocorreu em geral vinte dias após as folhas serem consideradas senescentes. Este comportamento de uma queda lenta da A_{sat} após a expansão e depois uma queda brusca próxima ao final da vida da folha também foi verificado por KITAJIMA *et al*, 1997, para cinco espécies tropicais.

Quando estes dados fenológicos são cruzados com os dados de A_{sat} ao longo da vida das folhas, podemos intuir que as plantas do tratamento de 64mM devem ter tido um maior ganho de carbono do que as plantas dos tratamentos de 16mM e 32mM, por dois fatores: o primeiro é a massa maior de cada folha (dados não mostrados) e o segundo, a quantidade de folhas maduras presentes na copa (uma vez que como visto nas Figuras 9 a 11 os maiores valores de A_{sat} ocorrem nesta fase, Diemer & Körner, 1996.) uma vez que o A_{max} foi igual para estes três tratamentos. A mesma explicação serve para comparar os tratamentos de 32mM com o de 16mM.

Para exemplificar este raciocínio usaremos a quantidade de carboidratos não estruturais presentes nas folhas maduras (Tabelas A3, A4, A5 e A6 do apêndice). A quantidade de carboidratos não estruturais presente na primeira folha madura do tratamento de 64mM foi 404,4 mg, enquanto a folha do tratamento de 32mM possuiu 388,8 mg e a folha do tratamento de 16mM possuiu 141,4 mg . Somando a quantidade de carboidratos não estruturais presentes em todas as folhas maduras, verificamos que o tratamento de 64mM possuiu 1635,5 mg de carboidratos, o tratamento de 32mM possuiu 958,73 mg e o tratamento de 16mM possuiu 274,2 mg .

Quando os três tratamentos de maior concentração foram comparados com o de 8mM, além de possuírem maior área folhear e mais folhas maduras, estes tratamentos também possuíram maior $A_{\max}$. O tratamento de 8mM apresentou apenas 71,9 mg de carboidratos não estruturais.

Independente do tratamento, observamos que existiu um atraso entre o $A_{\max}$ em relação ao término da expansão, estes dados corroboram a idéia presente na literatura (Miyazawasi & Terashima, 2001; Cai et al, 2005; Miyazawasi et al, 1998) de que plantas sempre verdes apresentam atraso no esverdeamento (*delay greening* em inglês).

Os dados de clorofila para o tratamento de 4mM apresentaram uma concordância com a posição da folha madura, ou seja, a terceira folha que estava madura apresentou os maiores valores de clorofila porém infelizmente, não foram realizadas medidas da taxa de assimilação líquida para este tratamento, e desta forma não sabemos se este atraso no esverdeamento ocorreu também para este tratamento.

Para o tratamento de 8mM a primeira folha madura estava na terceira posição, porém, os maiores valores de clorofila foram encontrados nas posições quatro, cinco e seis. Para o tratamento de 16mM a quinta posição apresentou os maiores valores de clorofila, enquanto a primeira folha madura estava na quarta posição.

Para o tratamento de 32mM os dados de clorofila apresentaram valor máximo para a sétima posição, enquanto a folha madura ocupava a sexta posição e o tratamento de 64mM apresentou a primeira folha madura na sétima posição e os maiores valores de clorofila da nona à décima primeira posição.

Assim, tanto os dados de clorofila quanto os dados de A_{sat} corroboram a hipótese do deslocamento do $A_{\max}$ em relação ao término da expansão. (MIYAZAWA & TERASHIMA, 2001; CAI *et al*, 2005; MIYAZAWA *et al*, 1998).

Quando os dados de carboidratos não estruturais foram analisados em relação às fases fenológicas apareceram algumas questões interessantes, que serão discutidas a seguir. Para os dois tratamentos de maior concentração (32mM e 64mM) que possuíram um aumento nas fases de maturidade, a quantidade de glicose e frutose (nas folhas maduras) foi significativamente

menor do que para os demais tratamentos. E enquanto para os outros tratamentos a quantidade de glicose diminuiu da maturidade para a senescência, nestes dois tratamentos, a quantidade de hexose ou aumentou muito pouco (tratamento de 32mM) ou permaneceu igual (tratamento de 64mM).

Como dito nos trabalhos de ONO *et al*, 2001; WINGLER *et al*, 2006; POURTAU, 2006; ARAYA *et al* 2006; MOORE *et al* 2003; WINGLER *et al* 1998, o aumento na quantidade de hexoses é responsável pela indução da senescência nas folhas, e neste caso, a baixa quantidade de hexoses na fase de maturidade pode ser o mecanismo fisiológico responsável pelo aumento desta fase. Ou seja, a quantidade de hexoses presente nas folhas maduras foi insuficiente para induzir a senescência.

O aumento de concentração de nitrogênio aumenta a capacidade e/ou atividade dos drenos que consomem hexoses. Como os dois tratamentos de maior concentração de nitrogênio apresentaram as maiores biomassas (como pode ser visto na Tabela 3) e a biomassa no final do experimento está sendo usada como um integrador de crescimento, podemos intuir que este aumento no crescimento é o responsável pela diminuição da quantidade de hexoses nas folhas maduras para os dois tratamentos de maior concentração. Um destes drenos para estes dois tratamentos é a maior quantidade de folhas expandindo, que como visto nas Tabelas 17 e 20, possuem a maior quantidade de hexoses, e como a taxa de assimilação destas folhas é baixa (Figuras 11 e 12) esta quantidade de hexose necessariamente foi importada.

Um dos fatos mais recorrentes na literatura é a diminuição da quantidade de amido (GEIGER *et al*, 1999; PAUL & STITT, 1993; NIELSEN *et al*, 1998) conforme aumenta a concentração de nitrogênio (presumivelmente drenado pela maior atividade das enzimas que assimilam nitrogênio e requerem esqueletos de carbono).

Neste trabalho isto não ficou evidente, uma vez que para as folhas expandindo não houve diferenças significativas entre os tratamentos (como pode ser visto na Tabela 34). Houve uma diferença do amido para as folhas maduras, porém, os tratamentos de 16mM e 4mM apresentaram os menores

valores e os tratamentos de 32mM e 64mM os maiores valores (como pode ser visto na Tabela 35). Apenas para as folhas senescentes os dois tratamentos de maior concentração apresentaram os menores valores. Por outro lado, os dados de amido combinam com os dados de transcritos da AGP ase (a primeira enzima da síntese de amido) que diminuem após a expansão das folhas. (WIEDEMUTH *et al*, 2005).

A diferença deste trabalho para a literatura não possui uma explicação óbvia, e podemos apenas levantar algumas hipóteses. A primeira é que como o NH_4 é tóxico para a maioria das plantas os experimentos com diferentes concentrações de nitrogênio geralmente são realizadas com NO_3 ou NH_4NO_3 como fontes de nitrogênio e desta forma a fonte de nitrogênio poderia interferir nos resultados. Outra possibilidade é a menor concentração de nitrogênio usada na literatura. Uma vez que nos tratamentos limitados por nitrogênio a concentração usada é menor que 1mM. (GEIGER *et al*, 1999; PAUL & STITT, 1993; NIELSEN *et al*, 1998).

Com os dados apresentados neste capítulo podemos concluir que a prática de analisar apenas a primeira folha totalmente expandida e considerá-la como um bom indicador da copa ocorre apenas para os tratamentos de menores concentrações de nitrogênio, se ao invés da folha totalmente expandida for usado o padrão de coloração para indicar o ápice do funcionamento da folha (devido ao atraso no esverdeamento). Como verificado para estes tratamentos praticamente não existe diferenças grandes entre as folhas maduras e senescentes. A complicação surge nos tratamentos de maior concentração, nos quais os perfis de carboidratos diferem entre as folhas expandidas, desta forma a heterogeneidade da copa impede a generalização de uma folha para a copa toda.

Diferente do experimento anterior, a quantidade de hexoses na senescência não foi um fator importante para este experimento, uma vez que, as taxas de mortalidade foram muito pequenas e a relação entres estes dois experimentos será explorada nas conclusões finais. Os dados deste capítulo foram usados para mudar o fluxograma apresentado no capítulo anterior que está representado na figura 13.

Figura 13: Fluxograma representando os principais resultados deste capítulo. Conforme a concentração de nitrogênio aumenta, a taxa de iniciação também aumenta, o que levou a um aumento na longevidade das folhas e no número de folhas da copa, o que modificou a estrutura vertical da copa. Apesar do aumento de nitrogênio aumentar a taxa de ganho de carbono das folhas, não houve um acúmulo de carboidratos, porque as perdas também aumentaram. As perdas neste modelo representam qualquer processo que diminua a quantidade

de carboidratos na folha. Neste caso o aumento das perdas pode ser causado pelo aumento da respiração, ou devido à maior taxa de exportação destes açúcares da folha, devido à maior taxa de crescimento ou consumo nas partes heterotróficas da planta. Independente de qual é o mecanismo, a menor quantidade de hexoses na fase de maturidade diminui as taxas de mortalidade (e, portanto, diminui seu efeito negativo na longevidade) e causa uma mudança no desenvolvimento das folhas, aumentando a fase de maturidade e diminuindo a fase de senescência e a de expansão.

As perdas associadas à biomassa total representam tudo o que foi respirado pela planta toda ou que saiu da planta, quer seja por exudação, liberação de compostos voláteis ou partes que morreram da planta.

2.6.Apêndice:

2.6.1.O tratamento de 2 mM

A quantidade absoluta de glicose foi maior para a segunda posição e diminuiu um pouco para a terceira posição, permanecendo constante para as demais posições. ($H=18,77$ e $P=0,002$) como pode ser visto na Tabela A1.

A frutose apresentou o mesmo padrão da glicose ($H=18,92$ e $P=0,002$) como pode ser visto na tabela A1.

A sacarose, diferente dos demais açúcares, não apresentou diferenças entre as posições ($H=9,57$ e $P=0,088$) como pode ser visto na tabela A1.

O padrão do amido foi diferente do apresentado pela glicose e pela frutose, neste caso, a terceira posição apresentou aproximadamente o dobro da quantidade da segunda posição. O valor da segunda posição foi aproximadamente o mesmo para a quarta, quinta e sétima posições. A sexta posição, por sua vez, apresentou os menores valores de amido ($H=18,04$ e $P=0,003$) como pode ser visto na tabela A1.

Tabela A1: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha^{-1}) presente nas folhas do tratamento de 2mM, distribuída de acordo com a

posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=5 para a segunda e sexta posições, N= 6 para a terceira, quarta e quinta posições e N=3 para a sétima posição.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2ª Posição	1,7 $\pm$ 0,72 ^A	0,6 $\pm$ 0,32 ^A	0,5 $\pm$ 0,40 ^A	4,3 $\pm$ 2,60 ^A
3ª Posição	1,1 $\pm$ 0,55 ^B	0,4 $\pm$ 0,20 ^B	1,3 $\pm$ 0,60 ^A	9,9 $\pm$ 18,40 ^B
4ª Posição	0,6 $\pm$ 0,44 ^B	0,3 $\pm$ 0,29 ^B	0,9 $\pm$ 0,59 ^A	6,4 $\pm$ 6,19 ^A
5ª Posição	0,3 $\pm$ 0,10 ^B	0,1 $\pm$ 0,04 ^B	0,6 $\pm$ 0,28 ^A	4,1 $\pm$ 5,53 ^A
6ª Posição	0,3 $\pm$ 0,09 ^B	0,1 $\pm$ 0,02 ^B	0,5 $\pm$ 0,24 ^A	2,0 $\pm$ 1,36 ^C
7ª Posição	0,3 $\pm$ 0,15 ^B	0,1 $\pm$ 0,08 ^B	0,6 $\pm$ 0,62 ^A	1,3 $\pm$ 0, 26 ^A

2.6.2.0 tratamento de 4 mM

A quantidade absoluta de glicose permaneceu constante e nos valores máximos para a segunda e terceira posições, caiu cerca de 1,7 vezes destas para a quarta posição, permaneceu neste valor para a quinta posição, sofreu uma nova queda de 2,5 vezes desta para a sexta e sétima posições e voltou para os valores das quarta e quinta posições para a última posição (H=30,83 e P<0,001) como pode ser visto na tabela A2.

A quantidade absoluta de frutose aumentou muito pouco da segunda para a terceira posição e voltou para os valores da segunda posição para as demais, com exceção da sétima posição que apresentou os menores valores. (H=25,41 e P<0,001) como pode ser visto na Tabela A2.

A quantidade absoluta de sacarose aumentou 4,5 vezes da segunda para a terceira posição e voltou para os valores da segunda posição para as demais posições (H=26,33, P<0,001) como pode ser visto na tabela A2.

A quantidade absoluta de amido seguiu o mesmo padrão da frutose, porém neste caso, a terceira posição aumentou cerca de três vezes em relação à segunda posição. Para a quarta, quinta, sexta e oitava posições a quantidade absoluta de amido voltou para os valores da segunda posição. A sétima posição

apresentou uma queda de cerca de 2,8 vezes em relação às posições supra citadas, como pode ser visto na tabela A2.

Tabela A2: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha⁻¹) presente nas folhas do tratamento de 4 mM, distribuída de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=9 para a segunda, terceira, quinta e sexta posições, N= 10 para a quarta posição, N=7 para a sétima posição e N=3 para a oitava posição.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2ª Posição	2,2 $\pm$ 0,20 ^A	0,6 $\pm$ 0,22 ^A	0,7 $\pm$ 0,98 ^A	4,5 $\pm$ 1,63 ^A
3ª Posição	2,4 $\pm$ 0,90 ^A	0,8 $\pm$ 0,31 ^B	3,1 $\pm$ 1,54 ^B	14,2 $\pm$ 5,57 ^B
4ª Posição	1,3 $\pm$ 0,56 ^B	0,5 $\pm$ 0,26 ^A	1,8 $\pm$ 0,90 ^A	7,7 $\pm$ 4,08 ^A
5ª Posição	1,2 $\pm$ 0,65 ^B	0,5 $\pm$ 0,29 ^A	1,2 $\pm$ 0,74 ^A	8,4 $\pm$ 6,19 ^A
6ª Posição	0,6 $\pm$ 0,07 ^C	0,2 $\pm$ 0,10 ^A	0,7 $\pm$ 0,31 ^A	3,8 $\pm$ 2,74 ^A
7ª Posição	0,4 $\pm$ 0,23 ^C	0,2 $\pm$ 0,10 ^C	0,5 $\pm$ 0,13 ^A	1,6 $\pm$ 0,66 ^C
8ª Posição	0,4 $\pm$ 0,6 ^B	0,2 $\pm$ 0,06 ^A	0,5 $\pm$ 0,12 ^A	1,2 $\pm$ 0,15 ^A

2.6.3.0 tratamento de 8 mM

A quantidade absoluta de glicose permaneceu constante da segunda para a terceira posição, caiu cerca de 3,5 vezes para a quarta posição e permaneceu nestes valores para a quarta, quinta, sexta e nona posições. Para a sétima e oitava posições ocorreu uma nova queda de aproximadamente 2,3 vezes (H=34,10 e P<0,001) como pode ser visto na Tabela A3.

A quantidade absoluta de frutose caiu cerca de 1,5 vezes da segunda para a terceira posição, permanecendo em valores aproximadamente constantes para as demais posições (H=32,12 e P<0,001) como pode ser visto na Tabela A3.

A quantidade absoluta de sacarose aumentou 12, 5 vezes da segunda para a terceira posição, permaneceu em valores próximos da terceira para a quarta

posição e voltou para valores próximos da segunda posição para as demais posições ($H=25,32$ e $P= 0,001$) como pode ser visto na Tabela A3.

A quantidade absoluta de amido aumentou cerca de 2,5 vezes da segunda para a terceira posição, permaneceu em valores próximos para a quarta posição, sofreu uma queda para valores próximos da segunda posição para a quinta e sexta posições, sofreu uma nova queda de aproximadamente 3,5 vezes para as sétima e oitava posições ($H=29,12$ e $P< 0,001$) e sofreu uma queda de aproximadamente 4 vezes para a nona posição, como pode ser visto na Tabela A3.

Tabela A3: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha^{-1}) presente nas folhas do tratamento de 8 mM, distribuída de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. $N= 4$ para a segunda posição $N=5$ para a terceira e oitava posições, $N= 6$ para a quarta e quinta, sexta e sétima posições e $N=3$ para a nona posição.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2ª Posição	$20,2 \pm 9,74^A$	$7,1 \pm 4,74^A$	$0,5 \pm 0,40^A$	$25,3 \pm 9,11^A$
3ª Posição	$13,4 \pm 5,05^A$	$5,0 \pm 2,67^B$	$5,0 \pm 2,16^B$	$63,5 \pm 33,2^B$
4ª Posição	$9,4 \pm 3,20^B$	$3,7 \pm 1,35^B$	$5,3 \pm 2,45^B$	$53,5 \pm 18,88^B$
5ª Posição	$6,1 \pm 3,54^B$	$2,4 \pm 1,21^B$	$3,5 \pm 2,85^A$	$30,8 \pm 22,50^A$
6ª Posição	$4,4 \pm 0,84^B$	$1,9 \pm 0,52^B$	$2,3 \pm 0,61^A$	$30,6 \pm 10,93^A$
7ª Posição	$2,2 \pm 0,86^C$	$0,9 \pm 0,31^B$	$1,1 \pm 2,600^A$	$9,79 \pm 6,08^C$
8ª Posição	$1,9 \pm 1,09^C$	$0,7 \pm 0,43^B$	$1,1 \pm 0,85^A$	$4,5 \pm 3,03^{CD}$
9ª Posição	$1,1 \pm 0,95^B$	$0,4 \pm 0,46^B$	$0,6 \pm 0,94^A$	$1,1 \pm 1,08^D$

2.6.4.0 tratamento de 16 mM

A concentração absoluta de glicose aumentou cerca de duas vezes da segunda para a terceira posição, essa sofreu uma queda de 1,5 para a quarta posição e retornou aos valores da segunda posição para a quinta e sexta posições. Da sexta para a sétima posição ocorreu uma ligeira queda e os

valores ficaram estáveis para as demais posições ($H=39,7$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela A4.

A concentração absoluta de frutose aumentou cerca de duas vezes da segunda para a terceira posição e retornou para os valores da segunda posição para a quarta, quinta, sexta e sétimas posições. A oitava posição sofreu uma queda de duas vezes em relação à sétima posição e permaneceu constante para as demais posições ($H=36,42$ e $P<0,001$) como pode ser visto na tabela A4.

A concentração absoluta de sacarose permaneceu constante da segunda para a terceira posição, sofreu um aumento de 1,5 vezes para a quarta e quinta posição. A sexta e sétimas posições apresentaram aproximadamente os mesmos valores da segunda e terceira posições. As três últimas posições apresentaram um valor aproximadamente igual à metade do valor da sétima posição ($H=33,42$ e $P<0,001$) como pode ser visto na tabela A4.

A concentração absoluta de amido possuiu um padrão muito próximo ao da sacarose, permaneceu constante da segunda para a terceira posição, sofreu um aumento de 1,3 vezes para a quarta e quinta posição. A sexta, sétima, oitava e décima posições apresentaram aproximadamente os mesmos valores da segunda e terceira posições. A nona posição apresentou os menores valores ($H=35,89$ e $P<0,001$) como pode ser visto na tabela A4.

Tabela A4: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha^{-1}) presente nas folhas do tratamento de 16 mM, distribuída de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. $N = 4$ para a segunda posição $N=9$ da terceira à nona posições e $N = 5$ para a décima posição.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2ª Posição	$19,4 \pm 15,70^A$	$7,3 \pm 7,32^A$	$2,9 \pm 1,66^A$	$21,9 \pm 19,10^A$
3ª Posição	$40,0 \pm 6,45^B$	$14,3 \pm 4,52^B$	$12,2 \pm 5,81^A$	$69,4 \pm 58,00^A$

4ª Posição	22,7 ± 2,68 ^C	8,6 ± 1,32 ^A	17,7 ± 3,41 ^B	92,4 ± 48,30 ^B
5ª Posição	18,2 ± 4,35 ^A	7,9 ± 2,65 ^A	15,5 ± 5,33 ^B	91,2 ± 31,60 ^B
6ª Posição	10,7 ± 2,20 ^A	4,4 ± 1,20 ^A	9,8 ± 3,05 ^A	66,2 ± 27,10 ^A
7ª Posição	9,5 ± 3,51 ^D	4,4 ± 2,27 ^A	7,2 ± 2,26 ^A	36,1 ± 19,35 ^A
8ª Posição	5,3 ± 1,47 ^D	2,3 ± 1,20 ^C	3,9 ± 1,30 ^A	12,93 ± 8,37 ^A
9ª Posição	3,5 ± 1,97 ^D	1,3 ± 0,73 ^C	3,0 ± 1,67 ^C	4,8 ± 4,63 ^C
10ª Posição	3,0 ± 1,97 ^D	1,4 ± 1,38 ^C	2,1 ± 2,76 ^C	0,4 ± 0,66 ^A

2.6.5.0 tratamento de 32 mM

A quantidade absoluta de glicose aumentou cerca de 12,5 vezes da terceira para a quarta posição, permaneceu em valores próximos para a quinta posição e diminuiu cerca de 1,7 vezes desta para a sexta posição. Para a sétima e oitava posições houve um retorno para os valores da terceira posição. A nona posição possuiu valores 1,2 menor do que a oitava posição e esses valores continuaram para a décima e décima primeiras posições. A décima segunda posição apresentou os menores valores, sendo estes 4,5 vezes menor do que a nona posição ($H=34,95$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela A5.

A quantidade absoluta de frutose aumentou de aproximadamente 46,7 vezes da terceira para a quarta posição e permaneceu nos valores próximos da quarta posição para a quinta e sexta posições. Para a sétima posição ocorreu uma queda de cerca de 3 vezes em relação à sexta posição e permaneceu nestes valores da oitava à décima primeira posições. A décima segunda posição apresentou valores próximos aos da terceira posição ($H=51,15$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela A5.

A quantidade absoluta de sacarose aumentou cerca de 9 vezes da terceira para a quarta posição e aumentou aproximadamente duas vezes da quarta para a quinta e sexta posições. Para a sétima, oitava, nona e décima posições ocorreu um retorno aos valores da quarta posição. Para a décima primeira e décima segunda posições ocorreu uma queda para valores próximos aos da terceira posição ($H=48,71$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela A5.

A quantidade absoluta de amido aumentou cerca de 30 vezes da terceira para a quarta e quinta posições, aumentou cerca de 2,5 vezes destas para a sexta, sétima e oitava posições. Para a nona e décima posições houve uma

queda para valores próximos aos da quarta e quinta posições. Para a décima primeira e décima segunda posições ocorreu uma queda para valores próximos aos da terceira posição ($H=52,54$ e $P < 0,001$) como pode ser visto na Tabela A5.

Tabela A5: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha^{-1}) presente nas folhas do tratamento de 32 mM, distribuída de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. $N = 7$ da terceira à décima posição, $N = 6$ para a décima primeira posição, $N = 5$ para a décima segunda posição e $N = 1$ para a segunda posição. Devido a este fato a segunda posição foi retirada desta análise.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2ª Posição	0,7	*	0,6	0,8
3ª Posição	$3,5 \pm 1,12^A$	$0,4 \pm 0,27^A$	$2,7 \pm 1,03^A$	$3,1 \pm 3,17^A$
4ª Posição	$44,0 \pm 12,03^B$	$14,7 \pm 6,08^B$	$18,7 \pm 13,90^B$	$90,8 \pm 61,00^B$
5ª Posição	$37,1 \pm 7,98^{BC}$	$11,5 \pm 9,95^B$	$38,8 \pm 10,62^C$	$230,0 \pm 79,50^B$
6ª Posição	$25,8 \pm 8,49^C$	$9,23 \pm 7,81^B$	$42,8 \pm 9,01^C$	$311,0 \pm 119,80^C$
7ª Posição	$16,4 \pm 7,71^A$	$4,0 \pm 2,22^C$	$28,4 \pm 14,42^B$	$277,8 \pm 203,00^C$
8ª Posição	$12,0 \pm 2,26^A$	$3,0 \pm 1,24^C$	$23,5 \pm 7,38^B$	$204,8 \pm 103,20^C$
9ª Posição	$9,4 \pm 2,25^D$	$2,7 \pm 1,18^C$	$17,3 \pm 3,41^B$	$108,7 \pm 85,60^B$
10ª Posição	$6,1 \pm 2,93^{DE}$	$1,8 \pm 0,83^C$	$11,1 \pm 4,74^B$	$43,2 \pm 45,70^B$
11ª Posição	$5,9 \pm 4,32^{DE}$	$2,0 \pm 1,35^C$	$9,0 \pm 6,95^A$	$9,6 \pm 8,81^A$
12ª Posição	$2,5 \pm 1,59^E$	$0,9 \pm 0,94^A$	$3,7 \pm 2,10^A$	$1,8 \pm 2,65^A$

2.6.6.O tratamento de 64 mM

A quantidade absoluta de glicose aumentou cerca de 3,3 vezes da terceira para a quarta posição e dobrou para a quinta e sexta posições. Para a sétima posição ocorreu uma queda de cerca de 1,9 vezes em relação à quinta e sexta posições. Para a oitava, nona e décima posição ocorreu uma queda para valores próximos aos da quarta posição. Para a décima primeira e décima segunda posição ocorreu uma queda para valores próximos aos da terceira

posição. A décima terceira e a décima quarta posição apresentaram os menores valores ($H=78,17$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela A6.

A quantidade absoluta de frutose aumentou de cerca de 7 vezes da terceira para a quarta posição e permaneceu nestes valores para a quinta posição. Da sexta à décima segunda posição ocorreu uma queda para valores próximos aos da terceira posição. Novamente a décima terceira e a décima quarta posição apresentaram os menores valores ($H=72,50$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela A6.

A quantidade absoluta de sacarose permaneceu constante da terceira para a quarta posição e aumentou cerca de 3,8 vezes para a quinta posição. Da sexta à décima posição ocorreu um aumento de cerca de 1,8 vezes em relação ao valor da quinta posição. Para a décima primeira e a décima segunda posição ocorreu uma queda para valores próximos aos da quinta posição. Para as demais posições ocorreu uma nova queda para valores próximos aos da terceira e quarta posições ($H=66,67$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela A6.

A quantidade absoluta de amido permaneceu constante da terceira para a quarta posição e aumentou cerca de 9,8 vezes para a quinta posição. Da sexta à décima posição ocorreu um aumento de cerca de 2,6 vezes em relação ao valor da quinta posição. Para a décima primeira posição ocorreu uma queda para valores próximos aos da quinta posição. Para as demais posições ocorreu uma nova queda para valores próximos aos da terceira e quarta posições ($H=75,58$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela A6.

Tabela A6: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha^{-1}) presente nas folhas do tratamento de 64 mM, distribuída de acordo com a posição destas folhas na copa. A folha de menor posição (neste caso a segunda) representa a folha superior (com exceção do broto) na copa e a folha mais nova, enquanto a folha de maior posição representa a folha inferior na copa e a folha mais velha. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. $N= 8$ da quarta à décima segunda posições. $N=7$ para a décima terceira e décima quarta

posições, N= 4 para a décima terceira posição e N=2 para a décima quinta posição. Devido a este fato a décima quinta posição foi retirada desta análise.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
3ª Posição	8,8 ± 10,62 ^A	1,1 ± 1,57 ^A	3,7 ± 2,42 ^A	3,9 ± 3,68 ^A
4ª Posição	29,6 ± 19,74 ^B	7,7 ± 5,62 ^B	3,9 ± 2,97 ^A	17,1 ± 10,06 ^A
5ª Posição	60,1 ± 16,95 ^C	14,5 ± 4,94 ^B	11,6 ± 8,64 ^B	98,4 ± 61,50 ^B
6ª Posição	44,3 ± 12,22 ^{CD}	7,1 ± 3,01 ^A	20,0 ± 8,05 ^C	254,5 ± 139,5 ^C
7ª Posição	38,9 ± 4,95 ^D	5,8 ± 1,69 ^A	26,2 ± 5,76 ^C	333,5 ± 62,80 ^C
8ª Posição	27,0 ± 7,33 ^B	4,0 ± 1,27 ^A	21,2 ± 2,85 ^C	385,4 ± 88,80 ^C
9ª Posição	24,5 ± 4,36 ^B	3,7 ± 0,83 ^A	21,3 ± 4,42 ^C	288,0 ± 76,70 ^C
10ª Posição	17,2 ± 5,42 ^B	2,9 ± 1,16 ^A	20,1 ± 6,50 ^C	283,8 ± 148,10 ^C
11ª Posição	11,7 ± 3,39 ^A	2,0 ± 0,67 ^A	13,1 ± 3,24 ^B	105,8 ± 53,50 ^B
12ª Posição	9,2 ± 1,52 ^A	2,0 ± 0,86 ^A	12,0 ± 1,80 ^B	39,6 ± 22,73 ^A
13ª Posição	5,9 ± 2,32 ^E	1,4 ± 0,74 ^C	7,7 ± 3,36 ^A	24,1 ± 25,24 ^A
14ª Posição	4,9 ± 2,44 ^E	1,0 ± 0,80 ^C	7,8 ± 2,62 ^A	17,5 ± 17,63 ^A
15ª Posição	2,0 ± 0,33	0,5 ± 0,23	2,4 ± 3,13	2,2 ± 2,83

2.7.Análise entre os tratamentos

O tratamento de 64mM não apresentou a segunda posição e o tratamento de 32mM apresentou apenas uma folha nesta posição, devido a estes fatos estes tratamentos foram retirados da análise desta posição.

A quantidade absoluta de glicose foi maior para o tratamento de 8mM do que para os tratamentos de 2mM e 4mM, sendo cerca de 10 vezes maior. O tratamento de 16mM não se separou de nenhum tratamento (H=11,81 e P=0,019) como pode ser visto na Tabela A7.

A quantidade absoluta de frutose apresentou diferença entre os tratamentos (H=10,25 e P=0,017), porém não foi possível encontrar diferenças nos testes múltiplos, como pode ser visto na Tabela A7.

A quantidade absoluta de sacarose não apresentou diferenças entre os tratamentos (H=4,31 e P=0,365) como pode ser visto na Tabela A7.

A quantidade absoluta de amido apresentou o mesmo padrão da quantidade absoluta de glicose, porém a diferença neste caso foi 5,9 vezes maior (H=11,61 e P=0,020) como pode ser visto na Tabela A7.

Tabela A7: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha⁻¹) presentes na segunda posição. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$ N=2 para o tratamento de 16mM, N=4 para o tratamento de 8 e de 4mM, N=5 para o tratamento de 2mM e N=1 para o tratamento de 32mM e por este motivo foi retirado da análise

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2 mM	1,7 $\pm$ 0,76 ^A	0,6 $\pm$ 0,32	0,5 $\pm$ 0,39 ^A	4,3 $\pm$ 1,61 ^A
4 mM	2,2 $\pm$ 0,20 ^A	0,6 $\pm$ 0,22	0,7 $\pm$ 0,98 ^A	4,5 $\pm$ 1,63 ^A
8 mM	20,2 $\pm$ 9,74 ^B	7,1 $\pm$ 4,74	0,5 $\pm$ 0,41 ^A	25,2 $\pm$ 9,11 ^B
16 mM	19,4 $\pm$ 15,70 ^{AB}	7,3 $\pm$ 7,31	2,9 $\pm$ 1,66 ^A	21,9 $\pm$ 19,10 ^{AB}
32 mM	0,7	*	0,6	0,8

A quantidade absoluta de glicose foi diferente para os tratamentos (H=29,63 e P<0,001) e foi agrupada em quatro blocos. O primeiro bloco foi constituído pelo tratamento de 2mM, e apresentou os menores valores, cerca de 2,7 vezes menor do que o do segundo bloco, composto pelos tratamentos de 4mM e de 32mM. Este foi cerca de 4,5 vezes menor do que o tratamento de 8mM, que representou o terceiro bloco. O tratamento de 16mM (que representou o quarto bloco) foi cerca de 3 vezes maior do que o tratamento de 8mM. O tratamento de 64mM não diferiu dos três primeiros blocos, como pode ser visto na Tabela A8.

A quantidade absoluta de frutose diferiu entre os tratamentos e os agrupou em três blocos (H=25,98 e P<0,001). Neste caso, o primeiro bloco, composto pelos tratamentos de 2mM, de 4mM e de 32mM apresentou os menores valores e foi cerca de 11 vezes menor do que o valor do tratamento de 8mM, que constitui o segundo bloco. O tratamento de 64mM apresentou valores que não o diferenciaram dos dois blocos citados acima. O tratamento de 16mM constituiu o terceiro bloco e seus valores foram cerca de 3 vezes maior do que o tratamento de 8mM, como pode ser visto na Tabela A8.

A quantidade absoluta de sacarose diferiu entre os tratamentos e novamente os agrupou em três blocos. O primeiro bloco, composto pelo tratamento de 2mM, foi cerca de 2,6 vezes menor do que o tratamento de 4mM. O tratamento de 32mM, por sua vez, não diferiu destes dois tratamentos

citados acima. O terceiro bloco, composto pelo tratamento de 16mM aumentou cerca de 3,9 vezes em relação ao tratamento de 4mM. O tratamento de 8mM não diferiu do segundo e do terceiro blocos e o tratamento de 64mM não diferiu de nenhum bloco ($H=20,23$ e $P=0,001$) como pode ser visto na Tabela A8.

A quantidade absoluta de amido, por outro lado, separou os tratamentos em dois blocos ($H=29,22$ e $P<0,001$). O primeiro bloco, composto pelos tratamentos de 2mM, de 4mM, de 32mM e de 64mM, apresentou valores cerca de 7,8 vezes menor do que o tratamento de 8mM, que constituiu o segundo bloco, como pode ser visto na Tabela A8.

Tabela A8: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha^{-1}) presentes na terceira posição. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. $N=6$ para o tratamento de 16mM e de 32mM, $N=4$ para o tratamento de 64mM, $N=5$ para o tratamento de 8mM, $N=9$ para o tratamento de 4mM e $N=6$ para o tratamento de 2mM

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2 mM	$1,1 \pm 0,55^A$	$0,4 \pm 0,20^A$	$1,3 \pm 0,60^A$	$9,9 \pm 4,29^A$
4 mM	$2,5 \pm 0,90^B$	$0,8 \pm 0,31^A$	$3,1 \pm 1,54^B$	$14,2 \pm 5,57^A$
8 mM	$13,4 \pm 5,05^C$	$5,0 \pm 2,67^B$	$5,0 \pm 2,16^{BC}$	$63,5 \pm 33,20^B$
16 mM	$40,0 \pm 6,45^D$	$14,3 \pm 4,52^C$	$12,0 \pm 5,81^C$	$69,4 \pm 58,00^{AB}$
32 mM	$3,5 \pm 1,13^B$	$0,4 \pm 0,27^A$	$2,6 \pm 1,04^{AB}$	$3,1 \pm 3,17^A$
64 mM	$8,8 \pm 10,62^{ABC}$	$1,1 \pm 1,57^{AB}$	$3,7 \pm 2,42^{ABC}$	$3,9 \pm 3,68^A$

A quantidade absoluta de glicose foi diferente entre os tratamentos e os dividiu em quatro blocos ($H=35,36$ e $P<0,001$). O primeiro bloco, composto pelos tratamentos de 2mM e 4mM foi cerca de 10 vezes menor do que o valor do tratamento de 8mM, que constituiu o segundo bloco. Este, por sua vez, foi cerca de 2,4 vezes menor do que o tratamento de 16mm, que constituiu o terceiro bloco. O tratamento de 32mM (que constituiu o quarto bloco) foi cerca de 1,9 vezes maior do que o tratamento de 16mM. O tratamento de 64 mM não diferiu dos tratamentos de 8mM, 16mM e 32mM, conforme pode ser visto na Tabela A9.

A quantidade absoluta de frutose, por outro lado, dividiu os tratamentos em três blocos ($H=34,13$ e $P<0,001$). Novamente o primeiro bloco foi composto pelos tratamentos de 2mM e de 4mM e foi cerca de 9,2 vezes menor do que o tratamento de 8mM. Este por sua vez foi cerca de 2,3 vezes menor do que o tratamento de 16mM e de 32mM, que juntos formaram o segundo bloco. O tratamento de 64mM não diferiu dos tratamentos de 8mM, 16mM e 32mM, como pode ser visto na Tabela A9.

A quantidade absoluta de sacarose também dividiu os tratamentos em três blocos ($H=31,11$ e $P<0,001$). O primeiro bloco, composto novamente pelos tratamentos de 2mM e 4mM, foi cerca de 4,4 vezes menor do que o tratamento de 8mM. O tratamento de 64mM não diferiu destes três tratamentos. O tratamento de 16mM, compôs o terceiro bloco e foi cerca de 3,3 vezes maior do que o tratamento de 8mM. O tratamento de 32mM não diferiu dos tratamentos de 16mM e 8mM, como pode ser visto na Tabela A9.

A quantidade absoluta de amido dividiu os tratamentos em três blocos ($H=32,90$ e $P<0,001$). O primeiro bloco foi formado pelos tratamentos de 2mM e 4mM. O segundo bloco composto pelos tratamentos de 8mM e 16mM, foi cerca de 11,2 vezes maior do que o primeiro bloco. O tratamento de 64mM que compôs o terceiro bloco, apresentou valores intermediários em relação aos dois primeiros blocos, sendo portanto, cerca de 2,5 vezes maior do que o primeiro bloco e cerca de aproximadamente 4,5 vezes menor do que o segundo bloco, conforme pode ser visto na Tabela A9.

Tabela A9: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha⁻¹) presentes na quarta posição. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=5 para o tratamento de 16mM, N=7 para o tratamento de 32mM, N=8 para o tratamento de 64mM, N=6 para o tratamento de 8mM, N=9 para o tratamento de 4mM e N=6 para o tratamento de 2mM

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2 mM	0,6 $\pm$ 0,44 ^A	0,3 $\pm$ 0,29 ^A	0,9 $\pm$ 0,59 ^A	6,4 $\pm$ 2,49 ^A
4 mM	1,3 $\pm$ 0,56 ^A	0,5 $\pm$ 0,26 ^A	1,8 $\pm$ 0,90 ^A	7,7 $\pm$ 4,08 ^A
8 mM	9,4 $\pm$ 3,20 ^B	3,7 $\pm$ 1,35 ^B	5,3 $\pm$ 2,45 ^B	53,5 $\pm$ 12,88 ^B
16 mM	22,7 $\pm$ 12,68 ^C	8,6 $\pm$ 1,32 ^C	17,7 $\pm$ 3,41 ^C	92,4 $\pm$ 48,30 ^B
32 mM	44,0 $\pm$ 12,03 ^D	14,7 $\pm$ 6,08 ^C	18,7 $\pm$ 13,90 ^{BC}	90,8 $\pm$ 61,00 ^B
64 mM	29,6 $\pm$ 19,74 ^{BCD}	7,7 $\pm$ 5,62 ^{BC}	3,85 $\pm$ 2,97 ^{AB}	17,1 $\pm$ 10,06 ^C

A quantidade absoluta de glicose diferiu entre os tratamentos agrupando-os em quatro blocos (H=37,24 e P<0,001). O primeiro bloco foi composto pelos tratamentos de 2mM e 4mM, sendo seus valores aproximadamente 9,2 vezes menores do que o tratamento de 8mM, que constituiu o segundo bloco. Este por sua vez foi 3 vezes menor do que o tratamento de 32mM, que constituiu o terceiro bloco e foi cerca de 1,6 vezes menor do que o tratamento de 64mM, que constituiu o quarto bloco, conforme pode ser visto na Tabela A10.

A quantidade absoluta de frutose dividiu os tratamentos em quatro blocos (H=34,85 e P<0,001). O primeiro bloco foi composto pelos tratamentos de 2mM e 4mM, sendo aproximadamente 8 vezes menor do que o tratamento de 8mM, que constituiu o segundo bloco, sendo este aproximadamente 3,2 vezes menor do que o tratamento de 16mM, que constituiu o terceiro bloco, e foi aproximadamente 1,8 vezes menor do que o tratamento de 64mM, que constituiu o quarto bloco. O tratamento de 32mM não diferiu dos tratamentos de 8mM, 16mM e 64mM, como pode ser visto na Tabela A10.

A quantidade absoluta de sacarose dividiu os tratamentos em três blocos (H=34,09 e P<0,001). O primeiro bloco foi composto pelos tratamentos de 2mM, 4mM e 8mM, ficando cerca de 9 vezes menor do que o de tratamento de 16mM. Este tratamento foi cerca de 2,5 vezes menor do que o tratamento de

32mM, que apresentou os maiores valores. O tratamento de 64mM não apresentou diferenças entre o primeiro bloco e o tratamento de 16mM, como pode ser visto na Tabela A10.

A quantidade absoluta de amido dividiu os tratamentos em quatro blocos (H=30,29 e P<0,001). O primeiro bloco foi composto pelos tratamentos de 2mM e 4mM, ficando estes cerca de 4,8 vezes menor do que o tratamento de 8mM. Este, por sua vez, ficando aproximadamente 2,9 vezes menor do que o tratamento de 16mM, que foi 2,5 vezes menor do que o tratamento de 32mM. O tratamento de 64mM não se diferenciou dos tratamentos de 8mM e de 16mM, como pode ser visto na Tabela A10.

Tabela A10: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha⁻¹) presentes na quinta posição. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com α =5%. N=6 para o tratamento de 16mM, N=7 para o tratamento de 32mM, N=8 para o tratamento de 64mM, N=5 para o tratamento de 8mM, N=8 para o tratamento de 4mM e N=6 para o tratamento de 2mM

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2 mM	0,3 $\pm$ 0,10 ^A	0,1 $\pm$ 0,04 ^A	0,6 $\pm$ 0,28 ^A	4,1 $\pm$ 2,35 ^A
4 mM	1,2 $\pm$ 0,65 ^A	0,5 $\pm$ 0,29 ^A	1,2 $\pm$ 0,74 ^A	8,4 $\pm$ 6,16 ^A
8 mM	6,1 $\pm$ 3,54 ^B	2,5 $\pm$ 1,21 ^{BC}	3,5 $\pm$ 2,85 ^A	30,8 $\pm$ 22,50 ^B
16 mM	18,2 $\pm$ 4,35 ^C	7,9 $\pm$ 2,65 ^C	15,5 $\pm$ 5,33 ^B	91,2 $\pm$ 31,60 ^C
32 mM	37,1 $\pm$ 7,98 ^D	11,5 $\pm$ 9,95 ^{BCD}	38,8 $\pm$ 10,62 ^C	230,0 $\pm$ 79,50 ^D
64 mM	60,1 $\pm$ 16,95 ^E	14,5 $\pm$ 4,94 ^D	11,6 $\pm$ 8,64 ^{AB}	98,4 $\pm$ 61,50 ^{BC}

A quantidade absoluta de glicose apresentou diferença entre os tratamentos e os dividiu em 5 grupos. Novamente os tratamentos de 2mM e 4mM foram agrupados e estes dois tratamentos apresentaram valores aproximadamente 9,7 vezes menor do que o apresentado pelo tratamento de 8mM. Este por sua vez, apresentou valores cerca de 2,5 vezes menor do que o tratamento de 16mM, que por sua vez, apresentou valores 1,7 vezes menor do que o tratamento de 64mM (H=34,84 e P<0,001), como pode ser visto na Tabela A11.

A quantidade absoluta de frutose apresentou diferença entre os tratamentos e os dividiu em três grupos. Novamente os tratamentos de 2mM e 4mM foram agrupados e apresentaram valores 12 vezes menores do que o tratamento 8mM. Este por sua vez apresentou valores cerca de 3,6 vezes menores do que os tratamentos de 16mM, 32mM e 64mM. Estes três últimos tratamentos não se separaram ($H=31,52$ e $P<0,001$), como pode ser visto na Tabela A11.

A quantidade absoluta de sacarose apresentou diferença entre os tratamentos e os dividiu em cinco grupos. Novamente os tratamentos de 2mM e 4mM foram agrupados e apresentaram valores 3,8 vezes menores do que o tratamento 8mM. Este por sua vez apresentou valores cerca de 4,2 vezes menor do que o tratamento de 16mM, que por sua vez apresentou valores aproximadamente 2 vezes menor do que o tratamento de 64mM, que apresentou valores 2,1 vez menor do que o tratamento de 32mM ($H=34,82$ e $P<0,001$), como pode ser visto na Tabela A11.

A quantidade absoluta de amido apresentou diferença entre os tratamentos e os dividiu em quatro grupos. Novamente os tratamentos de 2mM e 4mM foram agrupados e estes dois tratamentos apresentaram valores aproximadamente 10,5 vezes menor do que o apresentado pelo tratamento de 8mM. Este por sua vez, apresentou valores cerca de 2,1 vezes menor do que o tratamento de 16mM, que por sua vez, apresentou valores 4,2 vezes menor do que o tratamento de 32mM e 64mM que não apresentaram diferenças entre si ($H=33,95$ e $P<0,001$), como pode ser visto na Tabela A11.

Tabela A11: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha⁻¹) presentes na sexta posição. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=6 para o tratamento de 16mM, N=7 para o tratamento de 32mM, N=8 para o tratamento de 64mM, N=6 para o tratamento de 8mM, N=6 para o tratamento de 4mM e N=5 para o tratamento de 2mM.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2 mM	0,3 $\pm$ 0,09 ^A	0,1 $\pm$ 0,02 ^A	0,5 $\pm$ 0,24 ^A	1,9 $\pm$ 1,17 ^A
4 mM	0,6 $\pm$ 0,26 ^A	0,2 $\pm$ 0,10 ^A	0,7 $\pm$ 0,31 ^A	3,8 $\pm$ 2,74 ^A
8 mM	4,4 $\pm$ 0,84 ^B	1,9 $\pm$ 0,52 ^B	2,3 $\pm$ 0,61 ^B	30,6 $\pm$ 10,93 ^B
16 mM	10,7 $\pm$ 2,21 ^C	4,5 $\pm$ 1,21 ^C	9,8 $\pm$ 3,05 ^C	66,2 $\pm$ 27,1 ^C
32 mM	25,8 $\pm$ 8,49 ^D	9,2 $\pm$ 7,81 ^C	42,8 $\pm$ 9,01 ^D	311,0 $\pm$ 119,80 ^D
64 mM	44,3 $\pm$ 12,22 ^E	7,1 $\pm$ 3,01 ^C	20,0 $\pm$ 8,05 ^E	254,5 $\pm$ 139,50 ^D

A quantidade absoluta de glicose apresentou diferença entre os tratamentos e os dividiu em três grupos. Os tratamentos de 2mM, 4mM e 8 mM foram agrupados e estes três tratamentos apresentaram valores aproximadamente 10 vezes menores do que o apresentado pelo tratamento de 16mM. Este por sua vez, apresentou valores cerca de 1,7 vezes menor do que o tratamento de 32mM, que por sua vez, apresentou valores 2,3 vezes menor do que o tratamento de 64mM (H=31,78 e P<0,001), como pode ser visto na Tabela A12.

A quantidade absoluta de frutose apresentou diferença entre os tratamentos e os dividiu em dois grupos. Novamente os tratamentos de 2mM, 4mM e 8 mM foram agrupados e apresentaram valores aproximadamente 15 vezes menores do que os apresentados pelo segundo grupo, composto pelos tratamentos de 16mM, 32 mM e 64mM (H=26,35 e P<0,001), como pode ser visto na Tabela A12.

A quantidade absoluta de sacarose apresentou diferença entre os tratamentos e os dividiu em três grupos. Novamente os tratamentos de 2mM, 4mM e 8 mM foram agrupados e estes três tratamentos apresentaram valores aproximadamente 10 vezes menores do que o apresentado pelo tratamento de 16mM. Porém, neste caso, o tratamento de 2mM não apresentou uma diferença

clara em relação ao de 16mM. Os outros dois tratamentos (32mM e 64mM) não se separaram e apresentaram valores aproximadamente 3,8 vezes maiores do que o tratamento de 16mM ($H=29,15$ e $P<0,001$), como pode ser visto na Tabela A12.

A quantidade absoluta de amido apresentou diferença entre os tratamentos e os dividiu em dois grupos. A diferença ocorreu entre o grupo que continha os tratamentos com as duas maiores concentrações (32mM e 64mM) dos demais tratamentos e apresentaram valores aproximadamente 6,2 vezes maior do que o apresentado pelo segundo grupo que é composto pelos tratamentos de 2mM, 4mM, 8 mM e 16mM ($H=29,88$ e $P<0,001$), como pode ser visto na Tabela A12.

Tabela A12: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha^{-1}) presentes na sétima posição. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=6 para o tratamento de 16mM, N=7 para o tratamento de 32mM, N=8 para o tratamento de 64mM, N=6 para o tratamento de 8mM, N=6 para o tratamento de 4mM e N=2 para o tratamento de 2mM.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
2 mM	$0,3 \pm 0,15^A$	$0,1 \pm 0,08^A$	$0,6 \pm 0,62^A$	$1,3 \pm 0,51^A$
4 mM	$0,4 \pm 0,23^A$	$0,2 \pm 0,09^A$	$0,5 \pm 0,13^A$	$1,6 \pm 0,66^A$
8 mM	$2,2 \pm 0,86^A$	$0,9 \pm 0,31^A$	$1,1 \pm 0,58^A$	$9,8 \pm 6,08^A$
16 mM	$9,5 \pm 3,51^B$	$4,4 \pm 2,27^B$	$7,2 \pm 2,26^{AB}$	$36,1 \pm 19,13^A$
32 mM	$16,4 \pm 7,71^B$	$4,0 \pm 2,22^B$	$28,4 \pm 14,42^C$	$277,8 \pm 203,00^B$
64 mM	$38,9 \pm 4,95^C$	$5,8 \pm 1,86^B$	$26,2 \pm 5,76^C$	$333,5 \pm 62,80^B$

O tratamento de 2mM não apresentou a oitava posição e por isso não está presente nesta análise.

A quantidade absoluta de glicose apresentou diferença entre os tratamentos e os dividiu em três grupos. Os tratamentos de 4mM e 8 mM foram agrupados e estes dois tratamentos apresentaram valores aproximadamente 4,1 vezes menores do que o apresentado pelo tratamento de 16mM. Este por sua vez, apresentou valores cerca de 2,2 vezes menor do que o tratamento de 32mM, que por sua vez, apresentou valores 2,2 vezes menor do que o tratamento de 64mM ($H=26,63$ e $P<0,001$), como pode ser visto na Tabela A13.

A quantidade absoluta de frutose apresentou diferença entre os tratamentos e os dividiu em dois grupos. Novamente os tratamentos de 4mM e 8 mM foram agrupados e apresentaram valores aproximadamente 6 vezes menores do que o apresentado pelo segundo grupo, composto pelos tratamentos de 16mM, 32mM e 64mM ($H=16,63$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela A13.

A quantidade absoluta de sacarose apresentou diferença entre os tratamentos e os dividiu em três grupos. Novamente os tratamentos de 4mM e 8 mM foram agrupados e estes dois tratamentos apresentaram valores aproximadamente 12 vezes menores do que o apresentado pelo tratamento de 16mM. Os outros dois tratamentos (32mM e 64mM) não se separaram e apresentaram valores aproximadamente 5,7 maiores do que o tratamento de 16mM ($H=23,34$ e $P<0,001$) como pode ser visto na Tabela A13.

A quantidade absoluta de amido apresentou diferença entre os tratamentos e os dividiu em dois grupos. A diferença ocorreu entre o grupo que continha os tratamentos com as duas maiores concentrações (32mM e 64mM) dos demais tratamentos e apresentaram valores aproximadamente 52 vezes maiores do que o apresentado pelo segundo grupo, composto pelos tratamentos de 4mM, 8 mM e 16mM ($H=24,34$ e $P<0,001$), como pode ser visto na Tabela A13.

Tabela A13: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha⁻¹) presentes na oitava posição. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=6 para o tratamento de 16mM, N=7 para o tratamento de 32mM, N=8 para o tratamento de 64mM , N=5 para o tratamento de 8mM e N=3 para o tratamento de 4mM.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
4 mM	0,4 $\pm$ 0,06 ^A	0,2 $\pm$ 0,06 ^A	0,5 $\pm$ 0,12 ^A	1,2 $\pm$ 0,39 ^A
8 mM	1,9 $\pm$ 1,09 ^A	0,7 $\pm$ 0,042 ^A	1,1 $\pm$ 0,85 ^A	4,5 $\pm$ 3,03 ^A
16 mM	5,3 $\pm$ 1,46 ^B	2,3 $\pm$ 1,20 ^B	3,9 $\pm$ 1,30 ^B	12,9 $\pm$ 8,37 ^A
32 mM	11,9 $\pm$ 2,26 ^C	2,9 $\pm$ 1,24 ^B	23,5 $\pm$ 7,38 ^C	240,8 $\pm$ 103,2 ^B
64 mM	27,0 $\pm$ 7,33 ^D	4,0 $\pm$ 1,27 ^B	21,2 $\pm$ 2,85 ^C	385,4 $\pm$ 88,8 ^B

Os tratamentos de 2mM e 4 mM não apresentaram a nona posição e por isso não estão presentes nesta análise.

A quantidade absoluta de glicose apresentou diferença entre os tratamentos e os dividiu em três grupos. Os tratamentos de 8 mM e 16mM foram agrupados e estes dois tratamentos apresentaram valores aproximadamente 2,7 vezes menores do que o apresentado pelo tratamento de 32mM. Este por sua vez, apresentou valores cerca de 2,5 vezes menor do que o tratamento de 64mM ($H=20,89$ e $P<0,001$), como pode ser visto na Tabela A14.

A quantidade absoluta de frutose apresentou diferença entre os tratamentos e os dividiu em dois grupos. O tratamento de 8mM e apresentou valor aproximadamente 9 vezes menor do que o apresentado pelo tratamento de 64mM. Os tratamentos de 16mM e de 32mM não se separaram destes dois grupos. ($H=15,13$ e $P=0,002$) como pode ser visto na Tabela A14.

A quantidade absoluta de sacarose apresentou diferença entre os tratamentos e os dividiu em dois grupos. Novamente os tratamentos de 8mM e 16mM foram agrupados e estes dois tratamentos apresentaram valores aproximadamente 10 vezes menores do que o apresentado pelo tratamento de 32mM e 64mM, que não apresentaram diferenças entre si ($H=18,39$ e $P<0,001$), como pode ser visto na Tabela A14.

A quantidade absoluta de amido apresentou diferença entre os tratamentos e os dividiu em três grupos. A diferença ocorreu entre o grupo que continha os tratamentos com as duas menores concentrações (8mM e 16mM) dos demais tratamentos. Este grupo apresentou valores aproximadamente 21 vezes menores do que o apresentado pelo tratamento de 32mM, que por sua vez, apresentou valores 2,6 vezes menor do que o tratamento de 64mM ($H=19,54$ e $P<0,001$), como pode ser visto na Tabela A14.

Tabela A14: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha⁻¹) presentes na nona posição. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$.

N=6 para o tratamento de 16mM, N=7 para o tratamento de 32mM, N=8 para o tratamento de 64mM e N=3 para o tratamento de 8mM.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
8 mM	1,1 ± 0,54 ^A	0,4 ± 0,46 ^A	0,6 ± 0,94 ^A	1,1 ± 1,08 ^A
16 mM	3,5 ± 1,97 ^A	1,3 ± 1,74 ^{AB}	2,9 ± 1,67 ^A	4,8 ± 4,63 ^A
32 mM	9,4 ± 2,25 ^B	2,7 ± 1,18 ^{AB}	17,2 ± 2,41 ^B	108,7 ± 85,60 ^B
64 mM	24,5 ± 4,36 ^C	3,7 ± 0,83 ^B	21,3 ± 4,42 ^B	288,0 ± 76,7 ^C

Os tratamentos de 2mM e 4 mM e 8mM não apresentaram a décima posição e por isso não estão presentes na análise a seguir.

A quantidade absoluta de glicose apresentou diferença entre os tratamentos e os dividiu em dois grupos. Os tratamentos de 16mM e 32mM foram agrupados e estes dois tratamentos apresentaram valores aproximadamente 3,8 vezes menores do que o apresentado pelo tratamento de 64mM (H=12,49 e P=0,002) como pode ser visto na Tabela A15.

A quantidade absoluta de frutose não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos (H=4,62 e P=0,099), como pode ser visto na Tabela A15.

A quantidade absoluta de sacarose apresentou diferença entre os tratamentos e os dividiu em dois grupos. O tratamento de 16 mM apresentou valores aproximadamente 2,6 vezes menores do que o apresentado pelo tratamento de 64mM, o tratamento de 32mM não se diferenciou dos outros dois tratamentos (H=10,71 e P=0,005) como pode ser visto na Tabela A15.

A quantidade absoluta de amido apresentou diferença entre todos os tratamentos. O tratamento de 16mM apresentou valores cerca de 86 vezes menor do que o tratamento de 32mM, que por sua vez, apresentou valores cerca de 6,5 menor do que o tratamento de 64mM (H=13,96 e P=0,001) como pode ser visto na Tabela A15.

Tabela A15: Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha⁻¹) presentes na décima posição. Os dados são apresentados como média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=3 para o tratamento de 16mM, N=6 para o tratamento de 32mM, N=8 para o tratamento de 64mM.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
16 mM	3,0 ± 3,19 ^A	1,4 ± 1,38 ^A	2,1 ± 2,76 ^A	0,3 ± 0,66 ^A
32 mM	6,1 ± 2,93 ^A	1,7 ± 0,83 ^A	11,1 ± 4,74 ^{AB}	43,2 ± 45,7 ^B
64 mM	17,2 ± 5,42 ^B	2,9 ± 1,16 ^A	20,1 ± 6,50 ^B	283,8 ± 48,1 ^C

Os tratamentos de 2mM e 4 mM e 8mM e 16mM não apresentaram a décima primeira posição e por isso não estão presentes na análise a seguir.

A quantidade absoluta de glicose aumentou cerca de 2 vezes do tratamento de 32mM para o de 64mM (H=5,40 e P=0,020) como pode ser visto na Tabela A16.

A quantidade absoluta de frutose e sacarose não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos (H=0 e P=1; H=2,82 e P=0,093 respectivamente), como pode ser visto na Tabela A16.

A quantidade absoluta de amido aumentou cerca de 10,9 vezes do tratamento de 32mM para o de 64mM (H=9,6 e P=0,002) como pode ser visto na Tabela A16.

Tabela A16 Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha⁻¹): presentes na décima primeira posição. Os dados são apresentados como média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=6 para o tratamento de 32mM e N=8 para o tratamento de 64mM.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
32 mM	5,9 ± 4,32 ^A	2,0 ± 1,35 ^A	9,0 ± 6,95 ^A	9,6 ± 8,81 ^A
64 mM	11,6 ± 3,39 ^B	2,0 ± 0,67 ^A	13,1 ± 3,24 ^A	105,8 ± 53,50 ^B

Os tratamentos de 2mM e 4 mM e 8mM e 16mM não apresentaram a décima primeira posição e por isso não estão presentes na análise a seguir.

A quantidade absoluta de glicose aumentou cerca de 3,7 vezes do tratamento de 32mM para o de 64mM (H=7,38 e P=0,007) como pode ser visto na Tabela A17.

A quantidade absoluta de frutose não apresentou diferença significativa entre os tratamentos (H=3,49 e P=0,062) como pode ser visto na Tabela A17.

A quantidade absoluta de sacarose aumentou cerca de 3,3 vezes do tratamento de 32mM para o de 64mM ($H=7,38$ e $P=0,007$) como pode ser visto na Tabela A17.

A quantidade absoluta de amido aumentou cerca de 19,5 vezes do tratamento de 32mM para o de 64mM ($H=8,57$ e $P=0,003$) como pode ser visto na Tabela A17.

Tabela A17 Quantidade absoluta de carboidratos não estruturais (mg folha⁻¹) presentes na segunda posição. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas com $\alpha = 5\%$. N=4 para o tratamento de 32mM e N=8 para o tratamento de 64mM.

	Glicose	Frutose	Sacarose	Amido
32 mM	2,5 $\pm$ 1,59 ^A	0,9 $\pm$ 0,94 ^A	3,7 $\pm$ 2,10 ^A	1,8 $\pm$ 2,65 ^A
64 mM	9,2 $\pm$ 1,52 ^B	2,0 $\pm$ 0,86 ^A	11,9 $\pm$ 1,80 ^B	39,6 $\pm$ 22,70 ^B

CONCLUSÃO GERAL

Conclusão Geral

A espécie *Senna alata* preferiu o amônio (NH_4) como principal fonte de nitrogênio, e esta fonte de nitrogênio, ao contrário da maioria das plantas, não foi tóxica para esta espécie, uma vez que no primeiro experimento (segundo capítulo) apresentou as maiores biomassas e a menor longevidade foliar. Esta menor longevidade foliar não foi devido a um efeito tóxico, uma vez que no segundo experimento (terceiro capítulo) as plantas que receberam 64mM de NH_4 apresentaram uma longevidade bem maior do que as plantas que receberam como fonte de nitrogênio o NO_3 e o NH_4NO_3 . O motivo desta ausência de toxicidade pode estar relacionada com o fato desta planta ser de crescimento rápido e, portanto possuir um dreno forte para compostos nitrogenados orgânicos, que são fundamentais para o crescimento e, desta forma impedem que o NH_4 se acumule nos tecidos. Como esta planta apresenta altas taxas de assimilação líquida de CO_2 e altas quantidades de amido, os esqueletos de carbono necessários para a assimilação do NH_4 não foram presumivelmente uma limitação, como proposto por TOLLEY-HENRY & RAPER 1986.

Neste trabalho nós tivemos uma sorte inesperada porque no primeiro experimento houve um aumento da mortalidade sem efeito na iniciação foliar, enquanto no segundo experimento tivemos o resultado oposto, desta forma, pudemos explorar o efeito de cada um deles independente do outro, o que nos permitiu generalizar as conclusões com base nestes processos ao invés do resultado final que é a longevidade da folha.

As generalizações feitas a seguir são destinadas a árvores nas quais o padrão de emergência das folhas é sucessivo e característico de espécies do início da sucessão ecológica (KIKUZAWA 1983), infelizmente árvores com padrão simultâneo de nascimento (característico de árvores do final da sucessão ecológica, KIKUZAWA (1983) possuem altas longevidades, geralmente maiores do que um ano, o que as tornam um problema para experimentos de curto prazo como os realizados neste trabalho.

Devemos ressaltar que quando a iniciação foliar for igual à mortalidade, a copa está em equilíbrio dinâmico e o modelo de ACKERLY, 1999, aplica-se nesta situação. Nosso modelo se aplica quando a copa não está em equilíbrio, característico de fases juvenis de plantas com padrão sucessivo de emergência.

Desta forma propomos que sempre que um tratamento qualquer aumentar a mortalidade e não possuir efeito sobre a iniciação foliar, a longevidade foliar irá diminuir, o que levará à concomitante diminuição do número de folhas da copa. Como a mortalidade age apenas nas folhas senescentes, a mudança no desenvolvimento das folhas é vista como uma menor duração da fase senescente. Desta forma a estrutura vertical da copa não se modifica, uma vez que apenas as posições inferiores são eliminadas, ou seja, a primeira posição da copa será ocupada por um broto, seguida de uma folha expandindo, seguida de uma folha madura e esta seguida por folhas senescentes que devem estar em menor quantidade. Quando isto ocorre há uma concordância, portanto, entre as posições na copa e as fases de desenvolvimento das folhas. Neste caso haverá um acúmulo de hexoses nas folhas senescentes.

Quando um tratamento qualquer aumentar a iniciação foliar e não possuir efeito na mortalidade haverá um aumento da longevidade e um aumento concomitante do número de folhas da copa. Neste caso a mudança no desenvolvimento das folhas é vista como uma maior duração da fase de maturidade. Desta forma a estrutura da copa será modificada, uma vez que aumenta a quantidade de folhas expandindo na copa bem como a quantidade de folhas maduras. Desta forma não ocorre uma concordância entre as posições na copa e as fases de desenvolvimento das folhas. Neste caso haverá uma diminuição da quantidade de hexoses nas folhas maduras, o que atrasará ou inibirá a senescência foliar.

Resumo Geral

O tempo de vida e o desenvolvimento foliar sempre foram questões que intrigaram a humanidade, para além da questão científica, há um interesse até mesmo estético, uma vez que as folhas senescentes do hemisfério Norte e algumas do hemisfério Sul mudam sua coloração de verde para vermelho ou para um amarelo vistoso. Do ponto de vista científico o tempo de vida foliar está associado à produtividade das plantas, bem como às características estruturais das folhas. No entanto, a maioria dos trabalhos enfoca apenas a folha individualmente e não aborda o ponto que o tempo de vida foliar é, na verdade, um produto das taxas de nascimento e de mortalidade que ocorrem no nível da copa. Este é provavelmente o fator que faz com que haja um grande contraste na literatura sobre o tempo de vida foliar. Do ponto de vista ecológico analisam-se apenas as consequências do tempo de vida foliar, sem levar em consideração os mecanismos fisiológicos responsáveis pela mortalidade. Os trabalhos fisiológicos, por outro lado, enfocam em causas da mortalidade – o aumento na quantidade de hexoses e/ou mudanças nos reguladores de crescimento - sem levar em consideração as consequências do tempo de vida foliar. Este trabalho visa integrar estas duas visões.

Como o nitrogênio é um dos minerais que possuem um efeito profundo no tempo de vida foliar, este foi usado como ferramenta para modificar o tempo de vida foliar de plantas de *Senna alata*, uma planta pioneira da família Leguminosae, que apresenta crescimento rápido. Foram realizados dois experimentos. No primeiro foi definida a melhor fonte de nitrogênio para o desenvolvimento da planta usando concentrações iguais de NO_3 , NH_4 e NH_4NO_3 . E no segundo experimento foi estudado o efeito de diferentes concentrações da melhor fonte. Em ambos os casos, a expansão, a biomassa, a fotossíntese (somente no segundo experimento) e teores e composição de carboidratos não estruturais, foram acompanhados para cada folha da planta. No primeiro experimento observou-se que ocorreu um aumento na taxa de mortalidade sem efeito na taxa de iniciação foliar, este fato levou a uma diminuição na longevidade das folhas, o que diminuiu o número de folhas na

copa, mas não alterou a estrutura vertical da copa. A quantidade de hexoses na fase de senescência parece estar envolvida com o aumento na taxa de mortalidade através do mecanismo sensor de açúcares e como atuou diminuindo o tempo de senescência das folhas, levou a uma mudança no desenvolvimento foliar.

No segundo experimento não houve diferença na mortalidade, mas um aumento na iniciação foliar, assim, conforme a concentração de nitrogênio aumentou, a longevidade das folhas tendeu a aumentar e o número de folhas na copa aumentou, mudando a estrutura vertical desta. Como observado no primeiro experimento, a baixa concentração de hexoses durante a fase de maturidade pareceu ser o mecanismo que impediu a senescência foliar e que, portanto, modificou o desenvolvimento foliar por aumentar a sua fase de maturidade

Abstract

Leaf life span and development have always been intriguing aspects of nature. Even beyond the scientific scope, the aesthetics of such natural processes, illustrated in many different cases, such as when senescent northern hemisphere leaves (as well as some leaves found in the southern hemisphere) change colors from green to red or bright yellow. From a scientific standpoint, leaf life span is related to the plants' productivity, as well as the structural characteristics of the leaves themselves. Unfortunately, most current academic studies focus specifically on leaves, neglecting the fact that leaf life span is intimately related to birth and mortality rates at the canopy. This is possibly the greatest issue surrounding academic controversies and discussions regarding leaf life span. From an ecologic perspective, only the consequences deriving from leaf life span are analyzed, while all mortality-related physiological mechanisms are not considered. Physiological studies, on the other hand, focus on causes of mortality – increased amount of hexoses and/or changes in growth regulators – but fail to consider the consequences of leaf life span. This article attempts to integrate both standpoints.

As one of the minerals with greatest effect on leaf life span, nitrogen will be used as a way to alter leaf life span during the experiments. In the first experiment we will establish the most adequate nitrogen source, using the same NO_3 , NH_4 e NH_4NO_3 concentrations. In the second experiment, we will assess the effect of different concentrations in such nitrogen source. The first experiment indicated an increase in the mortality rate with no impact over the leaf initiation process, which decreased leaf life span and the amount of leaves in the canopy, but did not change the canopy vertical structure. The amount of hexoses in the senescence phase is responsible for the mortality rate increase and, by shortening the leaves' senescence process, ultimately changed the leaves' development.

The second experiment did not indicate changes in the mortality rate, but prompted the leaf initiation process. Therefore, as the nitrogen concentration increased, so did the leaves' life span and the amount of leaves in the canopy,

altering its vertical structure. During the maturity phase, the low hexose concentration seemed to be the mechanism responsible for hindering the leaf senescence process and, therefore, modified the leaves' development by increasing the maturity phase.

Referências Bibliográficas

ACKERLY, D.D, 1999. Self-shading, carbon gain and leaf dynamics: a test of alternative optimality models. *Oecologia* **119**: 300-310.

AMARAL, L., GASPAR, M., COSTA, F., PAULA, M., AIDAR, M., BUCKERIDE, M., 2007. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. *Hoehnea* **34** (4): 425-431.

ARAYA, T., NOGUCHI, KO., and TERASHIMA, I., 2006. Effects of Carbohydrate Accumulation on Photosynthesis Differ between Sink and Source Leaves of *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Cell Physiol.* **47**(5): 644-652.

BAZZAZ, F.A. and HARPER, J.L., 1977. Demographic analysis of the growth of *Linum usitatissimum*. *New Phytol.* **78**: 193-208.

CAI, Z.-Q, SLOT, M and FAN, Z.-X., 2005. Leaf development and photosynthetic properties of three tropical tree species with delayed greening. *Photosynthetica* **43**(1): 91-98.

CHABOT, B.F., and HICKS, D.J., 1982. The Ecology of leaf spans. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **13**: 229-259.

COWAN, A.K., FREEMAN, M., BJÖRKMAN, P-O., NICANDER, B., SITBON, F., and TILLBERG, E., 2005. Effects of senescence-induced alteration in cytokinin metabolism on source-sink relationships and ontogenic and stress-induced transitions in tobacco. *Planta* **221**: 801-814.

CRAINE, J.M., and REICH, P.B., 2001. Elevated CO₂ and nitrogen supply alter leaf longevity of grassland species. *New Phytologist* **150**: 397-403.

DEWAR, R.C., 1996. The Correlation between Plant Growth and Intercepted Radiation: An Interpretation in Terms of Optimal Plant Nitrogen Content. *Annals of Botany* **78**: 125-136.

DIEMER, M., and KÖRNER, CH., 1996. Lifetime leaf carbon balances of herbaceous perennial plants from low and high altitudes in the central Alps. *Functional Ecology* **10**: 33-43.

FIELD, C. and MOONEY, HA., 1986. The photosynthesis-nitrogen relationship in wild plants. In: On the economy of plant form and function (ed GIVINISH, T.), Cambridge University Press, pp 25-55.

GEIGER, M., HAAKE, V., LUDEWIG, F., SONNEWALD, U., and STITT, M., 1999. The nitrate and ammonium nitrate supply have major influence on the response of photosynthesis, carbon metabolism, nitrogen metabolism and growth to elevated carbon dioxide in tobacco. *Plant, Cell and Environment* **22**: 1177-1199.

GODOY, J.R.L., MARABESI, A.M., MORTARE, L.C., AIDAR, M.P.M. and BUCKERIDGE, M.S., 2009. A Dinâmica da floresta neotropical e as mudanças climáticas globais. *Naturalia* **32**: 53-66.

HARN, C., KHAYAT, E., and DAIE, J., 1993. Expression Dynamics of Genes Encoding Key Carbon Metabolism Enzymes during Sink to Source Transition of Developing Leaves. *Plant Cell Physiol.* **34**(7): 1045-1053.

KIKUZAWA, K., 1983. Leaf survival of woody plants in deciduous broad-leaved forests. 1. Tall trees. *Can. J. Bot.* **61**: 2133-2139.

KIKUZAWA, K., 1991. A cost-benefit analysis of leaf habit and leaf longevity of trees and their geographical pattern. *Am. Nat.* **138**: 1250-1263.

KIKUZAWA, K., 1995. Leaf phenology as an optimal strategy for carbon gain in plants. *Can. J. Bot.* **73**: 158-163.

KIKUZAWA, K., and ACKERLY, D., 1999. Significance of leaf longevity in plants. *Plant Species Biology* **14**: 39-45.

KITAJIMA, K., MULKEY, S.S. and WRIGHT, J.S., 1997. Decline of photosynthetic capacity with leaf age in relation to leaf longevities for five tropical canopy tree species. *American Journal of Botany* **84**(5): 702-708.

KRAPP, A., HOFMANN, B., SCHÄFER, C. and STITT, M., 1993. Regulation of the expression of *rbcS* and other photosynthetic genes by carbohydrates: a mechanism for the sink regulation of photosynthesis? *Plant J.* **3**: 817-828.

KRAPP, A., QUICK, W.P. and STITT, M., 1991. Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase, other Calvin-cycle enzymes and chlorophyll decrease when glucose is supplied to mature spinach leaves via the transpiration stream. *Planta* **186**: 58-69.

LAMBERS, H. and POORTER, H., 1992. Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecological consequences. *Adv. Ecol. Res.* **22**: 187-261.

LOPES, M.S., and ARAUS, J.L., 2008. Comparative genomic and physiological analysis of nutrient response to NH_4^+ , NH_4^+ : NO_3^- and NO_3^- in barley seedlings. *Physiologia Plantarum* **134**: 134-150.

MARABESI, M.A., 2007. Efeito do CO_2 no crescimento inicial e na fisiologia da fotossíntese em plântulas *Senna atala* (L.) Roxb. Dissertação (Mestrado). Instituto de Botânica. São Paulo, Brasil.

MILLER, A., SCHLAGENHAUFER, C., SPALDING, M. and RODERMEL, S., 2000. Carbohydrate regulation of leaf development: Prolongation of leaf senescence in Rubisco antisense mutants of tobacco. *Photosynthesis Research* **63**(1): 1-8.

MILLER, A., TSAI, C-H., HEMPHILL, D., ENDRES, M., RODERMEL, S. and SPALDING, M., 1997. Elevated CO₂ Effects during Leaf Ontogeny. A New Perspective on Acclimation. *Plant Physiol.* **115**: 1195-1200.

MIYAZAWA, S-I and TERASHIMA, I., 2001. Slow development of leaf photosynthesis in an evergreen broad-leaved tree, *Castanopsis sieboldii*: relationships between leaf anatomical characteristics and photosynthetic rate. *Plant, Cell and Environment* **24**: 279-291.

MIYAZAWA, S-I., SATOMI, S. and TERASHIMA, I., 1998. Slow Leaf Development of Evergreen Broad-leaved Tree Species in Japanese Warm Temperate Forests. *Annals of Botany* **82**: 859-869.

MOORE, B., ZHOU, L., ROLLAND, F., HALL, Q., CHENG, W-H., LIU Y-X, HWANG, I., JONES, T. and SHEEN, J., 2003. Role of the *Arabidopsis* glucose sensor HXK1 in nutrient, light, and hormonal signaling. *Science* **300**: 332-336.

NIELSEN, T.H., KRAPP, A., RÖPER-SCHWARZ, U., and STITT, M., 1998. The sugar-mediated regulation of genes encoding the small subunit of Rubisco and the regulatory subunit of ADP glucose pyrophosphorylase is modified by phosphate and nitrogen. *Plant, Cell and Environment* **21**: 443-454.

ONO, K., NISHI, Y., WATANABE, A. and TERASHIMA, I., 2001. Possible Mechanism of Adaptive Leaf Senescence. *Plant biol.* **3**: 234-243.

PAUL, M.J., and DRISCOLL, S.P., 1997. Sugar repression of photosynthesis: the role of carbohydrates in signaling nitrogen deficiency through source: sink imbalance. *Plant, Cell and Environment* **20**: 110-116.

PAUL, M.J., and STITT, M., 1993. Effects of nitrogen and phosphorus deficiencies on levels of carbohydrates, respiratory enzymes and metabolites in seedlings of tobacco and their response to exogenous sucrose. *Plant, Cell and Environment* **16**: 1047-1057.

POORTER, H. and NAGEL, O.W., 2000. The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water: a quantitative review. *Australian Journal of Plant Physiology* **27**: 595-607.

PORRA, R.J., THOMPSON, W.A., and KRIEDEMANN, P.E., 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls *a* and *b* extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta* **975**: 384-394.

POURTAU, N., JENNINGS, R., PELZER, E., PALLAS, J., and WINGLER, A., 2006. Effect of sugar-induced senescence on gene expression and implications for the regulation of senescence in *Arabidopsis*. *Planta* **224**: 556-568.

REICH, P.B., WALTERS, M.B., and ELLSWORTH, D.S., 1992. Leaf Life-span in relation to leaf, plant, and stand characteristics among diverse ecosystems. *Ecological Monographs* **62**(3): 365-392.

REICH, P.B., UHL, C., WALTERS, M.B., and ELLSWORTH, D.S., 1991. Leaf lifespan as a determinant of leaf structure and function among 23 amazonian tree species. *Oecologia* **86**: 16-24.

SHEEN, J., 1990. Metabolic repression of transcription in higher plants. *Plant Cell* **2**: 1027-1038.

SODEK, L., 2004. Metabolismo do Nitrogênio. Em: KERBAUY, G.B. (Ed) Fisiologia Vegetal. Ed. Guanabara Koogan, 2004, pp. 94-113.

STITT, M., and SCHULZE, D., 1994. Does Rubisco control the rate of photosynthesis and plant growth? An exercise in molecular ecophysiology. *Plant, Cell and Environment* **17**: 465-487.

STITT, M., MÜLLER, C., MATT, P., GIBON, Y., CARILLO, P., MORCUENDE, R., SCHEIBLE, W-R. and KRAPP, A., 2002. Steps towards an integrated view of nitrogen metabolism. *Journal of Experimental Botany* **53**(370): 959-970.

STITT, M., SCHAEWEN, V.A. and WILLMITZER, L., 1990. Sink regulation of photosynthetic metabolism in transgenic tobacco plants expressing yeast invertase in their cell wall involves a decrease of the Calvin-cycle enzymes and an increase of glycolytic enzymes. *Planta* **183**: 40-50.

SULPICE, R, et al., 2009. Starch as major integrator in the regulation of plant growth. *PNAS* **106**(25): 10348-10353.

TOLLEY-HENRY, L. and RAPER, C.D., 1986. Utilization of Ammonium as a Nitrogen Source. Effects of ambient acidity on Growth and nitrogen accumulation by soybean. *Plant Physiol.* **82**: 54-60.

THOMAS, H. and STODDART, J.L., 1980. Leaf senescence. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **31**: 83-111.

WIEDEMUTH, K., MÜLLER, J., KAHLAU, A., AMME, S., MOCK, H-P., GRZAM, A., HELL, R., EGLE, K., BESCHOW, H. and HUMBECK, K., 2005. Successive maturation and senescence of individual leaves during barley whole plant

ontogeny reveals temporal and spatial regulation of photosynthetic function in conjunction with C and N metabolism. *Journal of Plant Physiology* **162**: 1226-1236.

WINGLER, A., PURDY, S., MACLEAN, J.A., and POURTAU, N., 2006. The role of sugars in integrating environmental signals during the regulation of leaf senescence. *Journal of Experimental Botany* **57**(2): 391-399.

WINGLER, A., SCHAEWEN, A.V., LEEGOOD, R.C., LEA, P.J., and QUICK, W.P., 1998. Regulation of Leaf Senescence by Cytokinin, Sugars, and Light. Effects on NADH-Dependent Hydroxypyruvate Reductase. *Plant Physiol.* **116**: 329-335.