

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**USO DE UM MUTANTE EM AUXINA NO ESTUDO DA
DESORDEM NUTRICIONAL DE NITROGÊNIO EM
TOMATEIRO**

Luiz Cláudio Nascimento dos Santos

Engenheiro Agrônomo

2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**USO DE UM MUTANTE EM AUXINA NO ESTUDO DA
DESORDEM NUTRICIONAL DE NITROGÊNIO EM
TOMATEIRO**

Luiz Cláudio Nascimento dos Santos

Orientador: Prof. Dr. Renato de Mello Prado

Coorientador: Prof. Dr. Rogério Falleiros Carvalho

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Produção Vegetal).

2016

S237m Santos, Luiz Cláudio Nascimento dos
Uso de um mutante em auxina no estudo da desordem nutricional de nitrogênio em tomateiro / Luiz Cláudio Nascimento dos Santos. – – Jaboticabal, 2016
v, 54 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientador: Renato de Mello Prado
Coorientador: Rogério Falleiros Carvalho
Banca examinadora: Joni Esrom Lima, Aguinaldo José Freitas Leal, Priscila Lupino Gratão, Fábio Luiz Checcio Mingotte

Bibliografia

1. Deficiência nutricional do tomateiro. 2. Eficiência de utilização de nitrogênio. 3. Fitohormônios. 4. Nutrição mineral de plantas. 5. *Solanum lycopersicum* L. 6. Toxicidade. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 631.811:635.64

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
– Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

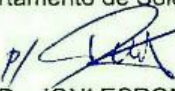
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

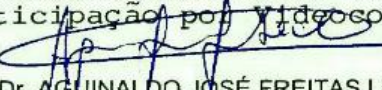
**TÍTULO: USO DE UM MUTANTE EM AUXINA NO ESTUDO DA DESORDEM NUTRICIONAL
DE NITROGÊNIO EM TOMATEIRO**

**AUTOR: LUIZ CLÁUDIO NASCIMENTO DOS SANTOS
ORIENTADOR: RENATO DE MELLO PRADO
COORIENTADOR: ROGÉRIO FALLEIROS CARVALHO**

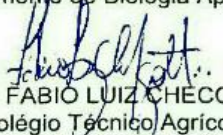
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA
(PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. RENATO DE MELLO PRADO
Departamento de Solos e Adubos / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. JONI ESROM LIMA
Departamento de Botânica / UFMG - Belo Horizonte/MG
Participação por videoconferência


Prof. Dr. AGUINALDO JOSÉ FREITAS LEAL
UFTM - Iturama, MG


Profa. Dra. PRISCILA LUPINO GRATÃO
Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. FABIO LUIZ CHECCHIO MINGOTTE
CTA - Colégio Técnico Agrícola / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 01 de novembro de 2016.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

LUIZ CLÁUDIO NASCIMENTO DOS SANTOS é natural de João Pessoa - PB, nascido em 29 de novembro de 1989, filho de Luiz Carlos Silva dos Santos e Maria de Fátima Nascimento dos Santos. É graduado em Engenharia Agrônômica em julho de 2011, pelo Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba - Câmpus II, Areia-PB (UFPB/CCA). Foi monitor da disciplina de Química e Fertilidade do solo nos anos 2009 e 2010. Realizou iniciação científica, na Embrapa Algodão atuando como bolsista PIBIT/CNPq de 2010 a 2011. Na UFPB, iniciou o curso de Mestrado junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo (PPGCS) como bolsista da CAPES, concluindo em novembro de 2013. Em fevereiro de 2014 concluiu o curso de Especialização “latu sensu” em Proteção de Plantas pela Universidade Federal de Viçosa. Em março de 2014, ingressou no curso de Doutorado em Agronomia/Produção Vegetal pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, sendo bolsista CAPES. Atua como membro do Grupo de Estudos em Nutrição de Plantas da UNESP (GENPLANT), com participação em várias atividades e projetos de pesquisa na área de Nutrição de Plantas. Foi representante discente junto ao conselho do Programa de Pós Graduação em Agronomia (Produção Vegetal).

“Cada um de nós compõe a sua história, cada ser em si carrega o dom de ser capaz, de ser feliz”.

Almir Sater e Renato Teixeira

Aos meus amados pais, Luiz Carlos e Maria de Fátima, por me ensinar que a educação é a maior conquista que se pode oferecer para o filho;

Ao meu irmão, Luiz Carlos Junior, pelo apoio, amor e carinho em todos os momentos;

À toda minha família, por me oferecer amor e carinho e por ser sempre paciente e compreensível.

OFEREÇO E DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela concessão da vida e pela alegria de viver em todos os momentos, pela saúde e pela força sempre oferecidas, e por ter tornado possível esta grande conquista.

Aos meus pais, Luiz Carlos Silva dos Santos e Maria de Fátima Nascimento dos Santos, pelo amor e carinho e pelos ensinamentos sempre oferecidos durante toda minha vida.

Ao meu irmão Luiz Carlos Silva dos Santos Junior pelo companheirismo, afeto fraternal e amoroso.

Aos meus queridos familiares, por serem minhas fortalezas, proporcionando-me força e determinação em todos os momentos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Renato de Mello Prado e coorientador Prof. Dr. Rogério Falleiro Carvalho, pela honra de poder receber suas orientações; pela excelente receptividade, presteza e paciência; pelo exemplo de profissionais; pelos conhecimentos e incentivos concedidos durante todo o curso de doutorado; pela grande contribuição e dedicação para a realização deste trabalho. Meu sincero respeito e admiração!

A Universidade Publica de Navarra (UPNA), em especial ao Prof. Dr Pedro M. Aparecido-Tejo, Dra. Berta Lasa, Dra. Janaina e Dra. Gilmar, por oferecer toda estrutura e apoio a pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, pela oportunidade de realizar o curso de doutorado.

Aos professores Rogério Falleiros Carvalho, Durvalina, Miguel Mutton, Márcia Mutton, Arthur Bernardes Cecílio Filho, Renato de Mello Prado, Pedro Luis Costa Alves, Paulo Guilherme Salvador Wadt, Leon Parent, Miguel Urrestarazu e Priscila Lupito Gratão, pelos ensinamentos concedidos ao longo das disciplinas e do curso.

A todos os componentes do GENPLANT, pela convivência e por compartilhar bons momentos, em especial: Gabriel Silva Junior, Cid Campos, Leandro Moda, Rafael Barreto, Sylvia Letícia e Gilmar Pereira, pela amizade construída e pelas valiosas contribuições concedidas ao longo da realização deste trabalho.

Aos estimados amigos Wallace Leite, Gabriel Barbosa, Fábio Leal, Cid Campos, Paulo Alexandre, Cláudio Barreto, Joel Cabral, Alexson Dutra, Marcelo Barbosa, Leonardo Silva, Fernando Franco, Leandro Moda, Rodolfo Lizcano, pela amizade fraterna, por sempre proporcionarem momentos que jamais serão esquecidos, pelos obstáculos enfrentados e por fazerem parte desta conquista. Guardarei comigo as lembranças das dificuldades e dos bons momentos compartilhados nesse período!

Aos amigos e membros do PROCAD, da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS/CPCS), Aguinaldo Leal, Rita Alves, Rafael Barreto e Maria Júlia Troleis; e Ana Paula Barreto, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Câmpus Vitória da Conquista, pela amizade e convivência, pelas trocas de experiências e pelas contribuições dadas a este trabalho.

Aos amigos e pesquisadores cubanos, Dilier Oviciedo, Leónides Castellanos, Carmen e Alejandro, pelos trabalhos desenvolvidos, e pela amizade construída.

Aos funcionários do Departamento de Solos e Adubos, Cláudia, Gibson e Mauro, e do Departamento de Biologia Aplicado à Agricultura, Soninha, Jamil e Martins pela convivência diária e pela presteza.

Aos membros da banca de defesa da tese pelas importantes contribuições oferecidas neste trabalho.

A CAPES, pela bolsa de estudo concedida para o curso de doutorado.

A todos, muito obrigado!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	ii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 A cultivar “Micro-Tom” e a mutação <i>dgt</i>	4
2.2 Interação nitrogênio x auxinas.....	6
2.3 Deficiência de N em tomateiro.....	8
2.4 Toxicidade de amônio em plantas.....	9
3 MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 Experimento I: A mutação diageotropica de tomateiro altera a eficiência do uso do nitrogênio.....	13
3.1.1 Local do trabalho.....	13
3.1.2 Delineamento experimental e tratamentos.....	13
3.1.3 Material vegetal.....	13
3.1.4 Meio de cultivo com suprimento e omissão de N.....	13
3.1.5 Avaliações do crescimento.....	14
3.2.6 Análise estatística.....	16
3.2 Experimento II – Fotossíntese e metabolismo do Nitrogênio em tomateiro sob diferentes fontes de N e auxina exógena.....	16
3.2.1 Local do trabalho.....	16
3.2.2 Delineamento experimental e tratamentos.....	16
3.2.3 Material vegetal e condições de crescimento.....	17
3.2.4 Avaliação de trocas gasosas.....	17
3.2.5. Extração e conteúdo de proteínas e glutamina sintetase.....	18
3.2.6. Acúmulo de nitrato e amônio.....	18
3.2.7 Análise estatística.....	19
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
4.1. Experimento I: A mutação diageotropica de tomateiro altera a eficiência do uso do nitrogênio.....	20
4.2. Experimento II – Fotossíntese e metabolismo do nitrogênio em tomateiro sob diferentes fontes de N e auxina exógena.....	29
5 CONCLUSÕES	42
6 REFERÊNCIAS	43
7 APÊNDICES	53

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Manejo da solução nutritiva do transplântio até aos 36 DAT (dias após o transplântio) das plantas de tomateiro. Dos 41 aos 51 DAS, o nitrogênio foi omitido apenas para as plantas representativas do tratamento -N.....	14
Figura 2. Altura de plantas (a), diâmetro do caule (b), área foliar (c) e área radicular (d) de plantas de dois genótipos (G) do tomateiro MT (controle) e <i>dgt</i> (baixa sensibilidade a AUX), cultivados em solução nutritiva sob deficiência (omissão de N) e suficiência de nitrogênio (Solução completa). **; * e ^{ns} = significativo ($P < 0,01$); ($P < 0,05$) e não significativo, respectivamente, pelo teste F. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem a presença de N dentro dos genótipos MT e <i>dgt</i>; e minúsculas, diferem os genótipos nos tratamentos, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)).	29
Figura 3. Densidade radicular (a), massa seca da parte aérea (b), massa seca da raiz (c) e massa seca total (d) e número de raízes laterais (e) de plantas de dois genótipos (G) do tomateiro MT (controle) e <i>dgt</i> (baixa sensibilidade a AUX), cultivados em solução nutritiva sob deficiência (omissão de N) e suficiência de nitrogênio (Solução completa). **; * e ^{ns} = significativo ($P < 0,01$); ($P < 0,05$) e não significativo, respectivamente, pelo teste F. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem a presença de N dentro dos genótipos MT e <i>dgt</i>; e minúsculas, diferem os genótipos nos tratamentos, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)).	31
Figura 4. Clorofila <i>a</i> (a), clorofila <i>b</i> (b), clorofila <i>a+b</i> (c) e carotenóides (d) de plantas de dois genótipos (G) do tomateiro MT (controle) e <i>dgt</i> (baixa sensibilidade a AUX), cultivados em solução nutritiva sob deficiência (omissão de N) e suficiência de nitrogênio (Solução completa). **; * e ^{ns} = significativo ($P < 0,01$); ($P < 0,05$) e não significativo, respectivamente, pelo teste F. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem a presença de N dentro dos genótipos MT e <i>dgt</i>; e minúsculas, diferem os genótipos nos tratamentos, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)).	33
Figura 5. Acúmulo de nitrogênio na raiz (a) e na parte aérea (b), e eficiência de utilização de N na raiz (c) e na parte aérea (d) na massa seca de plantas de dois genótipos (G) do tomateiro MT (controle) e <i>dgt</i> (baixa sensibilidade a AUX), cultivados em solução nutritiva sob deficiência (omissão de N) e suficiência de nitrogênio (Solução completa). **; * e ^{ns} = significativo ($P < 0,01$); ($P < 0,05$) e não significativo, respectivamente, pelo teste F. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem a presença de N dentro dos genótipos MT e <i>dgt</i>; e minúsculas, diferem os genótipos nos tratamentos, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)).	35
Figura 6. Aspecto das folhas (a) de MT (controle) e <i>dgt</i> (baixa sensibilidade a AUX), cultivados em solução nutritiva sob deficiência (omissão de N) e suficiência de nitrogênio (Solução completa), bem como aspecto vigoroso de <i>dgt</i> em -N quando comparado à +N (b).....	36

- Figura 7.** Matéria seca da parte aérea (a) da raiz (b) e da planta inteira (c) e relação raiz/parte aérea de plantas de dois genótipos de tomateiro, MT e *dgt*, cultivados sob diferentes fontes de N e auxina exógena. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem os tratamentos com N dentro dos genótipos MT e *dgt*; e minúsculas, diferem os genótipos dentro dos tratamentos com N, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)..... 38
- Figura 8.** Relação massa fresca e massa seca da raiz (a) e da parte aérea (b) de plantas de dois genótipos de tomateiro, MT e *dgt*, cultivados sob diferentes fontes de N e auxina. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem os tratamentos com N dentro dos genótipos MT e *dgt*; e minúsculas, diferem os genótipos dentro dos tratamentos com N, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)..... 40
- Figura 9.** Teor de nitrato na massa fresca da raiz (a) das folhas (b) e da planta inteira (c) de dois genótipos de tomateiro, MT e *dgt*, cultivados sob diferentes fontes de N e auxina exógena. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem os tratamentos com N dentro dos genótipos MT e *dgt*; e minúsculas, diferem os genótipos dentro dos tratamentos com N, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)..... 41
- Figura 10.** Teor de amônio na massa seca da raiz (a) das folhas (b) e da planta inteira (c) de dois genótipos de tomateiro, MT e *dgt*, cultivados sob diferentes fontes de N e auxina. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem os tratamentos com N dentro dos genótipos MT e *dgt*; e minúsculas, diferem os genótipos dentro dos tratamentos com N, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)..... 43
- Figura 11.** Atividade da enzima GS na raiz (a) e nas folhas (b) de dois genótipos de tomateiro, MT e *dgt*, cultivados sob diferentes fontes de N e auxina exógena. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem os tratamentos com N dentro dos genótipos MT e *dgt*; e minúsculas, diferem os genótipos dentro dos tratamentos com N, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)..... 44
- Figura 12.** Teor de proteína na massa fresca da raiz (a) e das folhas (b) de dois genótipos de tomateiro, MT e *dgt*, cultivados sob diferentes fontes de N e auxina. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem os tratamentos com N dentro dos genótipos MT e *dgt*; e minúsculas, diferem os genótipos dentro dos tratamentos com N, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)..... 46
- Figura 13.** Fotossíntese líquida ($A - \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (a), carbono interno ($C_i - \mu\text{mol mol}^{-1}$) (b), condutância estomática ($G_s - \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (c) e transpiração (d) ($E - \text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de dois genótipos de tomateiro, MT e *dgt*, cultivados sob diferentes fontes de N e auxina exógena. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem os tratamentos com N dentro dos genótipos MT e *dgt*; e minúsculas, diferem os genótipos dentro dos tratamentos com N, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)..... 48

USO DE UM MUTANTE EM AUXINA NO ESTUDO DA DESORDEM NUTRICIONAL DE NITROGÊNIO EM TOMATEIRO

RESUMO – A resposta do tomateiro à suficiência ou deficiência de nitrogênio depende da sinalização da auxina (AUX). O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da AUX nas respostas de plantas de tomateiro à deficiência de nitrogênio (N) e sua influência na eficiência de uso de N. Foram desenvolvidos dois experimentos, o primeiro foi conduzido em câmara de crescimento, utilizando-se o mutante *diageotropica* (*dgt*) de tomateiro cultivar Micro-Tom (MT), que apresenta baixa sensibilidade à AUX. As plantas foram submetidas à ausência e à presença de N na solução nutritiva. Foram avaliados após 10 dias de omissão de N: a altura de plantas e o diâmetro do caule, massa seca da raiz e da parte aérea, comprimento, área, diâmetro e densidade da raiz, número de raízes laterais (RL), área foliar, acúmulo de N e eficiência de utilização de nitrogênio (EUN) na raiz e na parte aérea, teores de clorofilas *a* e *b*, e carotenóides. O segundo experimento foi realizado na Universidad Publica de Navarra (UPNA), Espanha. Utilizou-se do delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições, arranjos em esquema fatorial 4 x 2, correspondendo a quatro tratamentos de N (N-NO_3^- ; N-NH_4^+ ; $\text{NO}_3^- + \text{AUX}$; omissão de N) e dois genótipos de tomateiro (MT e *dgt*). Foram avaliados variáveis de crescimento, fisiológicas, teores de nitrato e amônio nas folhas e raízes, proteína e glutamina sintetase (GS) nas folhas e raízes. Para todas as variáveis de crescimento, exceto diâmetro e comprimento radicular, houve efeito da interação entre os genótipos de tomateiro e tratamentos de N. Porém o diâmetro radicular apresentou redução pelos efeitos individuais dos genótipos de tomateiro e omissão e presença de N. Enquanto o comprimento radicular maior no tomateiro MT, o mutante *dgt* apresentou aumento no número de RL na deficiência de N. A AUX não sendo utilizada pelas plantas reduz o crescimento da parte aérea e do sistema radicular das plantas de tomateiro. O tomateiro *dgt* apresenta maior tolerância ao estresse por amônio, possivelmente devido ao maior acúmulo desse cátion nas raízes. Além de alterações no metabolismo do N, principalmente relacionado a uma maior EUN sob deficiência de N. As respostas inéditas no desenvolvimento do *dgt* em condições de deficiência de N podem estar relacionadas a uma maior atividade da GS na raiz e na parte aérea nessas condições.

Palavras-chave: deficiência nutricional, eficiência de utilização de nitrogênio, Fitohormônios, nutrição mineral de plantas, *Solanum lycopersicum* L., toxicidade

USE OF A MUTANT IN AUXIN IN THE STUDY OF NUTRITIONAL DISORDER OF NITROGEN IN TOMATO

ABSTRACT – It has been shown that tomato response to the sufficiency or deficiency of nitrogen depends on auxin signaling (AUX). The objective of this study was to measure the effect of AUX in the responses of tomato plants to nitrogen deficiency (N) and your influence on N use efficiency. Were developed two works, where the first was developed in a growth chamber, where he was used diageotropica mutant (*dgt*) of tomato cultivar Micro-Tom (MT), which has low sensitivity to the AUX. The plants were subjected to the privation and the presence of N in the nutrient solution. Were evaluated after 10 days of failure N: plant height and diameter, root dry mass and shoot length, area, diameter and root density, number of lateral roots (RL), leaf area, accumulation of N and nitrogen use efficiency (NUE) in root and shoot, chlorophyll a and b levels, and carotenoids. The second experiment was carried out at the Universidad Publica de Navarra (UPNA), Spain. It was used the completely randomized design with six replications, arranged in a factorial 4 x 2, corresponding to four treatments of N (N-NO₃⁻, N-NH₄⁺, NO₃⁻ + AUX, omission of N) and two tomato genotypes (MT and *dgt*) were evaluated analyzes of growth, physiological, nitrate and Ammonium on the leaves and roots, protein and glutamine synthetase in leaves and roots. For all the growth variables except root diameter and length, there was a significant interaction between tomato genotypes and treatment N. However, the root diameter was reduced by the individual effects of tomato genotypes and omission and presence of N, while the length radicular higher in MT tomato, the *dgt* mutant showed an increase in the number of RL disability N. AUX not used by plants reduces the growth of shoots and roots of tomato plants. The *dgt* tomato has a higher tolerance to stress ammonium, possibly due to greater accumulation of this cation in the roots. As well as the *dgt* tomato presents changes in the N metabolism, mainly related to increased EUN under disability N. The unprecedented responses in the development of *dgt* N deficiency conditions may be related to increased activity of GS in the root and shoot under these conditions.

Keywords: nutritional deficiency, nitrogen use efficiency, phytohormones, *Solanum lycopersicum* L., plant nutrition, toxicity

1. INTRODUÇÃO

A deficiência de nitrogênio (N) é um fator limitante ao crescimento e desenvolvimento das plantas (KOOHKAN; MAFTOUN, 2016). A falta de N no meio de cultivo induz uma sequência de eventos biológicos na planta que desencadeia alterações moleculares, como fitohormônios e DNA, evoluindo para modificações subcelulares que conduzem a alterações celulares resultando em desorganização dos tecidos (FLORES et al., 2016; PRADO, 2008). Observa-se ainda que a deficiência de N induz aumento da eficiência de uso de nitrogênio (EUN) das plantas por diversos aspectos, como alterações na arquitetura, morfologia do sistema radicular, e atividade de transportadores de N (XU et al., 2012; ZHU et al., 2015), maior relação raiz/parte aérea, ocasionando maior vigor das raízes (GARNETT et al., 2009).

Em alguns ecossistemas vegetais o amônio (NH_4^+) é a principal fonte de N, porém é tóxico em concentrações elevadas, especialmente quando disponíveis como fonte exclusiva de N. O estresse por amônio leva rapidamente aos diversos desequilíbrios metabólicos e hormonais que em última análise inibem raiz e crescimento da parte aérea em muitas espécies de plantas (YANG et al., 2015).

A resposta das plantas à deficiência de N pode estar associada ao controle hormonal, pois os hormônios são moléculas que controlam praticamente todas as etapas do desenvolvimento vegetal, desde a germinação até o florescimento (KROUK, 2016). Dessa forma, não é surpresa que haja um forte controle hormonal na nutrição em plantas desde a absorção e transporte de íons, até a indução de respostas morfofisiológicas aos nutrientes, incluindo estresses impostos pela deficiência ou excesso nutricional. De fato, evidências indicam que hormônios podem modular a atividade de transportadores de alta afinidade para o N, induzir atividade de enzimas que facilitem a remobilização de nutrientes a partir de fontes orgânicas ou inorgânicas e estimular o crescimento de órgãos que diretamente

participam da aquisição de nutrientes (BITTSÁNSZKY et al., 2015; FERRARO et al., 2015).

Um dos mais evidentes fitohormônios envolvidos na deficiência de N são as auxinas (AUXs). Quando produzida na parte aérea, as AUXs podem ser moléculas sinalizadoras de longa distância envolvidas no desenvolvimento de raízes laterais. No entanto, tem sido sugerido que o NO_3^- acumulado na parte aérea podendo diminuir a ramificação de raízes por inibição da síntese de AUX ou o seu transporte para a raiz (KROUK, 2016). Tem sido indicado que ocorrem mudanças no acúmulo de AUX translocado da parte aérea para a raiz em função da baixa disponibilidade de N em diferentes espécies, *Brassica caulorapa* (AVERY et al., 1937); *Glycine max* (CABA et al., 2000); *Triticum aestivum* (CHEN et al., 1998); *Ananas comosus* (TAMAKI e MERCIER., 2007); *Zea mays* (LIU et al., 2010), e *Arabidopsis thaliana* (KROUK et al., 2010; YANG et al., 2015). Todas essas descobertas têm originado ainda mais questionamentos e gerado mais interesse sobre a necessidade de compreender as interações hormonais e a regulação dos mecanismos de crescimento das plantas sob condições de deficiência nutricional.

Para melhor compreender a relação entre AUXs e N, ferramentas vegetais, tais como mutantes têm sido bastante utilizadas, Krouk et al. (2010) trabalhando com mutantes de *arabidopsis* no transportadores de nitrato, relata que sob baixa disponibilidade de N ocorre um crescimento maior da raiz principal e inibição de raízes laterais (RLs), devido os genes NRT1.1 reprimir a acumulação de AUX nos ápices de raízes laterais (RL) de plantas cultivadas em condições de uma baixa concentração de NO_3^- , levantando assim a questão de como o transportador de NO_3^- pode afetar a localização de hormônio, quando o NO_3^- não está presente. Entretanto, muito ainda é necessário conhecer visto que às evidências da participação das AUXs na sinalização nutricional, porém ainda pouco elucidada, é inevitável o surgimento de uma proposta que utilize ferramentas imprescindíveis, como os mutantes de tomateiro deficientes em AUX, cultivados sob condição de deficiência de N. O mutante de tomateiro *dgt*, com crescimento diageotrópico do caule e das raízes, apresenta baixa sensibilidade à AUX, constituída uma ferramenta importante

de estudos para este fitohormônio. Surge assim, a hipótese de que a disponibilidade de N em plantas com baixa sensibilidade à AUX pode alterar a eficiência de uso do N e o crescimento das plantas de tomateiro. Para isto, objetivou-se avaliar o efeito da AUX nas respostas de plantas de tomateiro à deficiência de N e sua influência na eficiência deste nutriente. Além de avaliar o efeito de diferentes fontes de N e AUX exógena no crescimento, nutrição, fisiologia e metabolismo de N em plantas de tomateiro com baixa sensibilidade à AUX.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A cultivar “Micro-Tom” e a mutação *dgt*

Algumas espécies de plantas apresentam características genéticas e morfológicas favoráveis aos estudos de melhoramento. No tomateiro é possível encontrar mutantes que apresentam alterações no metabolismo e/ou sensibilidade a vários hormônios. A espécie *Solanum lycopersicum* L. tornou-se um modelo muito importante para estudos de genética e fisiologia nos últimos anos (CARVALHO et al., 2011). Em estudos recentes envolvendo análises fenotípicas, Rosado et al. (2006), observaram que existem mutantes com sensibilidade alterada em resposta a mais de um hormônio, indicando que um único componente de sinalização pode atuar em duas ou mais respostas hormonais diferentes. Todas essas descobertas têm trazido ainda mais questionamentos e gerado mais interesse sobre a necessidade de compreender as interações hormonais e a regulação dos mecanismos de crescimento das plantas sob condições adversas.

Além de ser cultivado em todo o mundo e de sua importância econômica, o tomateiro apresenta várias características que o tornam um conveniente modelo de espécies vegetais. Isto ocorre porque apresenta um genoma relativamente compacto (950Mb) (CARVALHO et al., 2011), combinado com protocolos de transformação altamente eficiente (PINO et al., 2003). Portanto, é uma planta modelo alternativa a *Arabidopsis thaliana*, devido as suas diversas características de desenvolvimento que não são encontrados em *Arabidopsis*, como apresentar fruto carnoso e não seco (CARVALHO et al., 2011).

O pequeno tamanho conveniente e receptivo para o cultivo em grande escala de *Arabidopsis* também foi encontrado em tomate cv. Micro-Tom (MT) (CAMPOS et al., 2010). O tomateiro MT foi criado inicialmente para fins ornamentais (SCOTT et al., 1989), mas seu ciclo de vida rápido e alto rendimento indicam que a MT é uma cultivar candidato como sistema modelo de tomate (MEISSNER et al., 1997).

Contudo, é relevante destacar a importância do tomate no Brasil, onde o mesmo é considerado líder entre as hortaliças do cenário nacional, com 55.592 ha de área plantada, produção de 3.647.977 toneladas de frutos e rendimento médio de 65.621 kg ha⁻¹ (IBGE, 2013). Onde no Brasil, as regiões sudeste e centro-oeste são responsáveis por grande parte da produção nacional, destacando-se os estados São Paulo e Minas Gerais com maiores áreas cultivadas de tomate de mesa, com 25,8 e 17,9 %, relativamente, e o estado de Goiás com 79 %, mas para indústria (CAMARGO et al., 2011).

Sabe-se que a produção do tomate é controlada por fatores bióticos relacionados a própria planta (potencial genético, hormônios) e abióticos, como temperatura, disponibilidade de água e nutrientes, aeração, radiação solar, etc, onde esses fatores podem estar correlacionados, podendo interferir na produtividade e qualidade dos frutos produzidos. Considerando que os nutrientes mais requeridos são o potássio, nitrogênio e cálcio (PRADO et al., 2011), torna-se indispensável o fornecimento dos mesmos e os seus reflexos na nutrição da planta..

O mutante de tomate *diageotropica* (*dgt*) apresenta baixa sensibilidade à auxina (ácido indole-3-acético, AIA). Por isso, este mutante é caracterizado por várias diferenças no desenvolvimento e na fisiologia, como reduzida resposta ao gravitropismo, pequeno espaço entre entrenós, baixo número de raízes laterais, folhas e cotilédones enrolados, baixa dominância apical (ZOBEL, 1974; HO et al., 2006; BALBI; LOMAX, 2003; ZOBEL, 2016). O mutante *dgt* não afeta a biossíntese de AUX, por outro lado, afeta um específico passo na percepção ou de sinalização da auxina (RETZER; LUSCHNIG, 2015). Desta forma, o *dgt* torna-se uma interessante ferramenta para estudar processos fisiológicos mediados pela AUX. Recentemente Ivanchenko et al. (2015) elucidaram algumas informações sobre os mecanismos pelo qual o *dgt* poderiam influenciar nos efeitos da auxina nas plantas. Estes resultados recentes sugerem que a via de sinalização da AUX é condicionado por um ciclofilina, que é produzida na parte aérea e transportada para as raízes, induzindo divisão celular de células periciclo da raiz (IVANCHENKO et al., 2015; SPIEGELMAN et al., 2015).

Considerando o tomateiro uma hortaliça de grande importância em todo o mundo, sua produção consome grandes quantidades de fertilizantes nitrogenados, que causam graves problemas ambientais (GOOD et al., 2004). O aumento da eficiência no uso de nitrogênio (EUN) de culturas através da engenharia genética é uma área promissora da pesquisa (MASCLAUX-DAUBRESSE et al., 2010; XU et al., 2012). Uma vez que, estresses abióticos estão ameaçando seriamente a sua produção e qualidade. Embora GS, GOGAT e GDH desempenham papéis importantes nestes processos, e pesquisas sobre estes mutantes hormonais, a fim de elucidar as respostas hormonais na deficiência de N, são considerados essenciais para elucidar os processos envolvidos na melhor eficiência de utilização dos nutrientes, como o nitrogênio.

2.2 Interação nitrogênio x auxinas

O fornecimento de NO_3^- para as plantas modifica o crescimento e as etapas do desenvolvimento da planta, como a germinação (ALBORESI et al., 2005), o crescimento da raiz (GUO et al., 2005 ; LIU et al., 2010 ; REMANS et al., 2006), o crescimento da parte aérea (RAHAYU et al., 2005; WALCH-LIU et al., 2000), transição de fase de desenvolvimento, como descrito por Vidal et al. (2014), e na floração (MARIN et al., 2010). Estes processos são muito bem conhecidos por estar sob o controle da sinalização hormonal. O NO_3^- também atua controlando esses eventos, não é surpreendente observar que o NO_3^- afeta a biossíntese e transporte dos hormônios vegetais (KROUK, 2016). Para conhecimento, as mais antigas experiências relatando as relações entre AUX e nitrogênio foram feitas em 1937-1945. Os autores indicam que plantas de *Caulorapa Brassica*, crescendo em diferentes concentrações de N, alterou o conteúdo de AUX (AVERY et al., 1937; AVERY; POTTORF, 1945). Desde então, vários trabalhos demonstraram que a biossíntese, o transporte e o acúmulo de AUX foi alterada em resposta à diferentes concentrações de N em milho (CHEN et al., 1998; TIAN et al., 2008), soja (CABA et al., 2000), abacaxi (TAMAKI; MERCIER, 2007) e *Arabidopsis thaliana* (KROUK et al.,

2010; MA et al., 2014; WALCH-LIU et al., 2006). Uma regra geral pode ser tirada a partir destas referências, é que uma diminuição na disponibilidade de NO_3^- tende a promover a translocação da auxina a partir dos ápices para as raízes. No entanto, alguns trabalhos recentes usando genética molecular em *Arabidopsis*, demonstram que essa resposta não é tão simples. Ma et al. (2014) recentemente identificou Triptofano amino-transferase relacionadas (TAR2) como um gene chave mantendo a biossíntese de auxina em condições de baixa disponibilidade de N. Curiosamente, este gene é expresso em raízes e periciclo vascular e transcricionalmente induzido em condições de deficiência de N. Este trabalho demonstra que Tar2, pertencente à via principal da biossíntese de auxina (ZHAO, 2012), é importante, possivelmente para a acumulação de auxina observada em raízes em condições de baixa N e desenvolvimento de raízes laterais (MA et al., 2014).

Curiosamente, a interação entre a sinalização do NO_3^- e o transporte auxina, também é relatado pelo fato dos transportadores de nitrato também serem capazes de transportar auxina (KROUK, 2016). Na verdade, o gene CHLORATE1 (CHL1 / NRT1.1 / NPF6.3) (LERAN et al., 2014) foi identificado como sendo um transportador de NO_3^- de dupla afinidade, mais recentemente para ser um controlado NO_3^- transportador de auxina. Krouk et al. (2010) relataram que sob baixa disponibilidade de N ocorre um crescimento maior da raiz principal e a inibição de RLs, devido os genes *NRT1.1* reprimir a acumulação de AUX nos ápices de raízes laterais (RL) de plantas cultivadas em condições de uma baixa concentração de NO_3^- , levantando assim a questão de como o transportador de NO_3^- pode afetar a localização de hormônio quando o NO_3^- não está presente. Estes processos são muito bem conhecidos por estar sob o controle de sinalização hormonal. Não é surpreendente observar que o NO_3^- também controla a biossíntese e transporte do hormônio (GOJON et al., 2011; KROUK, 2016). Este é um exemplo impressionante da capacidade do NO_3^- para reprimir a atividade de transporte de auxina. Além disso, foi recentemente indicado que é a forma fosforilada da proteína T101 que parece ser capaz de transportar a auxina (BOUGYON et al., 2015), em comparação com uma forma não fosforilada. As publicações recentes desta fascinante estrutura de cristal da proteína (PARKER e NEWSTEAD, 2014; SUN et al., 2014) deverá contribuir para

definir os mecanismos internos da interação NO_3^- /auxina. Outra relação evidente entre o amônio e as AUXs, pois o excesso de NH_4^+ inibe o crescimento radicular, em parte devido à acidificação do pH externo que resulta na excreção de prótons (FINDENEGG, 1987). Isto diminui o valor do pH celular determina o estado de protonação do ácido indol-acético e influenciando no fluxo de auxina célula-a-célula. Este crescimento da raiz estimulada em baixas concentrações em NH_4^+ , fornece suporte para a hipótese de que a inibição do crescimento da raiz é mediada pela resposta reduzida da auxina na ponta da raiz quando o NH_4^+ é utilizado como a única fonte de N e em altas concentrações (YANG et al., 2015).

2.3. Deficiência de N em tomateiro

Dentre os nutrientes relevantes para o tomateiro, destaca-se o nitrogênio (N) que contribui para o maior crescimento das plantas, induzindo incremento da matéria seca de raízes, caules, folhas e de frutos, altura da planta, número de folhas, área foliar, florescimento, frutificação, produtividade e alteração hormonal (MEHMOOD et al., 2012; KUMAR et al., 2013), além de exercer efeito na absorção de outros nutrientes, como por exemplo, cálcio e magnésio (BORGOGNONE et al., 2013).

Sabe-se que a deficiência do N resulta, na maioria das vezes, em diminuição do crescimento, pois o nutriente incrementa a síntese proteica e fotossíntese, e sua limitação muitas vezes estar associada à aceleração da senescência foliar (FLORES et al., 2016, KOOHKAN; MAFTOUN, 2016), sendo o nutriente mais limitante para a produção de biomassa (YONG et al., 2010).

O nitrogênio apresenta-se como o segundo nutriente mais requisitado pela cultura do tomateiro. A sua deficiência pode causar alguns sintomas visíveis de distúrbios fisiológicos, dentre estes o acúmulo de antocianina, causando o arroxamento de caules, pecíolos e folhas mais velhas, além do sintoma clássico de clorose e senescência nas mesmas folhas, em casos de severa deficiência (MARENCO; LOPES, 2005). Frutos coloridos e plantas com crescimento aquém do adequado com aparência não vistosa, também são relatados como sintomas de deficiência de N em plantas de tomate (MARSCHNER, 2012).

2.4. Toxicidade de amônio em plantas

As espécies de plantas podem ser tolerantes ou não ao excesso de amônio no meio de cultivo, de modo que o efeito tóxico dessa forma de N influencia no crescimento e no desenvolvimento das plantas (CRUZ et al., 2011).

A absorção de N na forma amoniacal pode ter como vantagem o fato de o N estar na forma reduzida; no entanto, o fluxo de amônio é de difícil controle, devido à necessidade da homeostase celular do elemento, podendo induzir toxicidade às plantas (BITTSÁNZKY et al., 2015). Neste sentido, a maioria das plantas superiores desenvolve sintomas de toxicidade, quando cultivada apenas com amônio, podendo ocasionar a morte dos vegetais (HORCHANI; HAJRI; ASCHI-SMITI, 2011).

Entretanto, as respostas que as plantas apresentam quando absorvem N amoniacal ou nítrico são muito amplas, mesmo sendo da mesma espécie, de maneira que há diferenças entre variedades quanto ao desenvolvimento sob aplicação de amônio (CRUZ et al., 2011) e de nitrato (HUANG et al., 2013).

A toxicidade de amônio ocasiona mudanças bioquímicas e fisiológicas na planta, como: alterações no pH intracelular, no equilíbrio osmótico, no metabolismo de hormônios (LI et al., 2014), induz a deficiência de nutrientes (MENDOZA-VILLAREAL et al., 2015), podendo causar estresse oxidativo, aumentando o conteúdo de O_2^- e H_2O_2 , diminuindo os teores de clorofila e de carotenoides (WANG et al., 2010) e as taxas fotossintéticas (SU et al., 2012; BORGOGNONE et al., 2013). De modo geral, os sintomas de toxicidade do NH_4^+ em plantas deve-se, entre outros fatores, ao alto consumo de energia para o efluxo desse íon, mantendo baixa sua concentração no citosol da célula (BRITTO et al., 2014).

Na literatura, vários trabalhos relatam os sintomas de toxicidade de amônio em plantas, como, clorose, necrose, murchamento das folhas, coloração marrom do sistema radicular, senescência, menor crescimento das raízes e da parte aérea, e em casos de toxicidade severa, podendo ocorrer morte do vegetal (LI et al., 2014; JAMPEETONG; BRIK; KANTAWANICHKUL, 2012; WONG, 2005).

O amônio em excesso pode causar danos à integridade física das membranas das células dos vegetais (KOCHANOVÁ et al., 2014), sendo relatada a

aumento do índice de vazamento de eletrólitos em plantas de *Arabidopsis thaliana* (HELALI et al., 2010). Com isto, pode haver diminuição da atividade fotossintética das plantas, um dos processos metabólicos mais afetados pelas formas de N (BITTSÁNSZKY et al., 2015; CRUZ et al., 2014).

Dessa forma, verificou-se aumento da taxa de transpiração de plantas de *Solanum lycopersicum* (BORGOGNONE et al., 2013) e diminuição da eficiência fotossintética de *Zea mays* (VACULÍKOVÁ et al., 2014), causando menor crescimento das plantas.

Em concentrações elevadas de amônio, ocorre menor índice de cor verde das folhas de *Brassica napus* (HU et al., 2015) e de *Manihot esculenta* (CRUZ et al., 2014). Isso porque em ambas as espécies, foram observados aumento do conteúdo de espécies reativas de oxigênio, causando peroxidação oxidativa e diminuição dos teores de clorofila.

Em estudo com plantas de *Salvinia cucullata* sob concentrações de amônio, Jampeetong, Brix e Kantawanichkul (2012) observaram que concentrações acima de 5 mmol L⁻¹ de NH₄⁺ induziram o aparecimento de cloroses nas folhas mais velhas, associado a menores teores de clorofila, carotenoides e de K, diminuindo o crescimento da raiz e da parte aérea.

Em plantas de *Solanum lycopersicum* cultivadas em solução nutritiva com 5 mmol L⁻¹ de NH₄⁺, houve aumento no conteúdo de malondealdeído (MDA) e H₂O₂ nas folhas, induzindo à peroxidação lipídica devido o estresse oxidativo (BARRETO et al., 2016). Estes efeitos indicam que essa espécie é susceptível ao excesso de amônio.

Estudou-se o efeito de altas concentrações de amônio em plantas de *Latuca sativa*, *Spinacia oleracea*, *Solanum lycopersicum* e *Pisum sativum*, com base no local e no nível da atividade enzimática (GDH e GS). Verificou-se maior atividade das enzimas GDH e GS nas folhas em relação às raízes em alface, espinafre e tomate, enquanto o contrário ocorreu nas plantas de ervilha, sendo consideradas tolerantes à toxicidade de amônio (CRUZ et al., 2006).

A área foliar, o diâmetro do caule e a altura de plantas também podem ser afetados pelo excesso de amônio. Os prejuízos causados pelo NH₄⁺ sobre essas

variáveis foram observados em plantas de *Eustoma grandiflorum* (MENDOZA-VILLAREAL et al., 2015); de *Eucalyptus urophylla* (GUIMARÃES; CAIRO; NEVES, 2014) e de *Solanum lycopersicum* (BORGOGNONE et al., 2013).

O excesso de NH_4^+ está diretamente envolvido com o desenvolvimento das raízes, que são mais afetadas pela exposição a esse íon em relação aos outros órgãos das plantas (LI et al., 2014), com severas modificações fisiológicas e morfológicas (ZANIN et al., 2015).

O NH_4^+ em excesso causa o encurtamento das raízes primárias devido à inibição do alongamento e divisão celular nas zonas meristemáticas (PETRICKA; WINTER; ANNU, 2012), e como efeito secundário, a supressão das raízes laterais (LI et al., 2010). Nessas condições, há o aumento do efluxo de NH_4^+ na zona meristemática, conferido pela ação da GDP-manose pirofosforilase (GMPase), hipersensível ao NH_4^+ , em contraste com maior influxo desse íon nas células das raízes maduras (LI et al., 2014). Esses efeitos nocivos do amônio podem ser responsáveis pela redução de cerca de 70% do desenvolvimento das raízes (LIU et al., 2013). Além disso, as formas de N também podem afetar a síntese de atividade de hormônios nas raízes, inibindo ou promovendo o alongamento das células (LI et al., 2014). Em complemento, a aplicação de NH_4^+ em excesso, promove a inibição da síntese e do transporte de auxina nas células jovens das raízes (LI et al., 2013).

O balanço nutricional também é afetado pelo excesso de N amoniacal em plantas (PRADO, 2008; MARSCHNER, 2012; MENDOZA-VILLARREAL et al., 2015). O NH_4^+ em excesso na solução nutritiva diminui os acúmulos dos cátions K, Ca e Mg na parte aérea e na raiz, com relatos em várias espécies de plantas, como *Eustoma grandiflorum* (MENDOZA-VILLAREAL et al., 2015); *Fragaria spp.* (CHOI; LATIGUI; LEE, 2011) e *Eucalyptus urophylla* (GUIMARÃES; CAIRO; NEVES, 2014). O desequilíbrio entre esses íons ocorre devido aos distúrbios nutricionais nas plantas (LI et al., 2013), evidenciando o efeito antagônico de NH_4^+ em relação aos cátions, por serem íons que competem pelos mesmos sítios de absorção (MARSCHNER, 2012). Esse desbalanço iônico ocorre em razão do aumento do influxo de NH_4^+ e de efluxo de cátions na membrana plasmática, havendo extrusão destes íons para o

vacúolo celular, podendo causar sintomas de deficiências nutricionais às plantas (MENDONZA-VILLAREAL et al., 2015).

O fornecimento de NH_4^+ em excesso pode diminuir a eficiência de utilização de N nas raízes e na parte aérea, possivelmente devido ao consumo de luxo do nutriente (XU et al., 2012). Apesar do considerável número de pesquisas envolvendo a elucidação da toxicidade de NH_4^+ em plantas, há a necessidade de melhor entendimento das alterações nutricionais, enzimáticas e fisiológicas deste cátion, e relação com os hormônios, principalmente em hortaliças como o tomateiro, na qual estudos dessa natureza ainda não foram realizados.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Experimento I - A mutação diageotropica de tomateiro altera a eficiência do uso do nitrogênio

3.1.1. Local do trabalho

O trabalho foi desenvolvido na Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” (Unesp), faculdade de ciências agrárias e veterinária (FCAV), Câmpus de Jaboticabal.

3.1.2. Delineamento experimental e tratamentos

Para avaliar o papel do hormônio AUX em resposta à deficiência de N, utilizou-se do delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições, arranjados em esquema fatorial 2 x 2, correspondendo a dois genótipos de tomateiro (*dgt* e MT), cultivadas na presença (+N) e na ausência de nitrogênio (-N) em solução nutritiva. Cada unidade experimental constou de quatro plantas de tomateiro cultivadas em vaso.

3.1.3. Material vegetal

Foi utilizado o mutante *diageotropico* (*dgt*) de tomateiro (cv Micro-Tom), que apresenta baixa sensibilidade à AUX. Este mutante apresenta gene defectivo para biossíntese de uma ciclofilina, um possível componente da transdução do sinal (OH et al., 2006). Como controle, foi utilizado a cultivar Micro-Tom sem esta mutação gênica. Para propagação dos genótipos, sementes foram postas para germinar no interior de uma casa de vegetação, em bandejas contendo substrato comercial (Bioplant) e vermiculita expandida, na proporção de 1:1, suplementado com 1 g dm⁻³ do formulado NPK (10:10:10).

3.1.4. Meio de cultivo com suprimento e omissão de N

As plantas foram cultivadas em câmara de crescimento, sendo que aos 10 dias após a germinação, as plântulas foram transferidas para vasos de polipropileno

com capacidade para 180 mL, preenchidos com solução de Hoagland e Arnon (1950) aerada a 25% da força iônica, até o 8º dias após o transplantio (DAT). Após esse período foi trocada a solução de cultivo para 50% da força iônica, até o 16º dias após o transplantio (DAT). Após esse período, metade das plantas descritas anteriormente foram submetidas a um período de 10 dias sem N, enquanto que as demais plantas permaneceram com a mesma concentração de nitrato até o final do experimento (Figura 1).

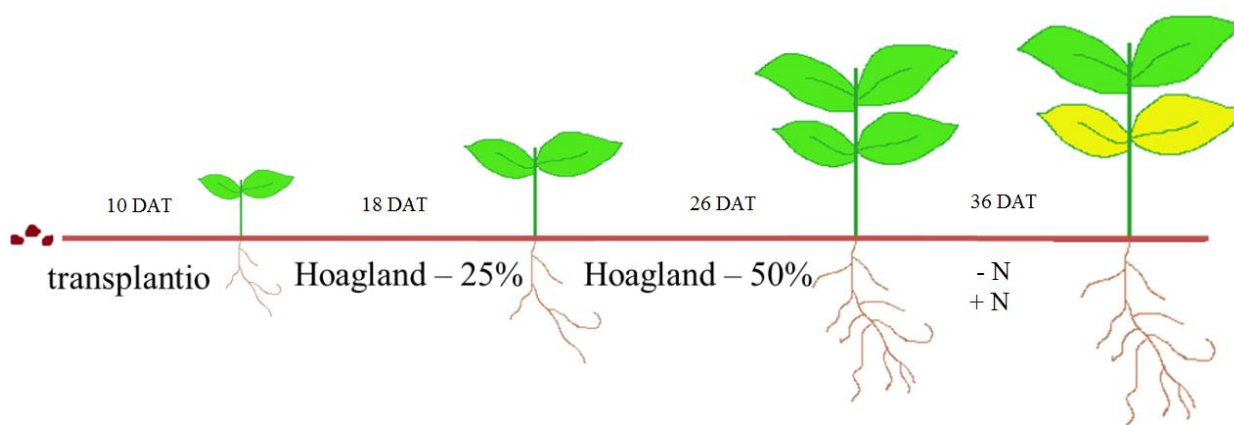


Figura 1. Manejo da solução nutritiva do transplantio até aos 36 DAT (dias após o transplantio) das plantas de tomateiro. Dos 41 aos 51 DAS, o nitrogênio foi omitido apenas para as plantas representativas do tratamento -N.

3.1.5. Avaliações do crescimento

a. Altura de plantas, diâmetro do caule e Área foliar: Para a determinação da altura de plantas, foi tomado como referência distância do colo ao ápice da planta. O diâmetro do caule foi medido com um paquímetro digital graduado em milímetros, na altura do colo da planta. A área foliar total foi obtida por meio da digitalização das folhas e subsequente análise das imagens através do software “Dias”.

b. Massa da matéria seca: o material vegetal coletado foi separado em raiz e parte aérea, sendo acondicionado em saco de papel e levado à estufa com renovação

forçada de ar a 65 ± 5 °C. A secagem durou 96 horas, tempo necessário para que as amostras apresentassem massa constante. Em seguida, as amostras foram pesadas em balança analítica (precisão de 0,001 g) para obtenção da massa da matéria seca da raiz e da parte aérea. Com a soma das massas destes órgãos, foi obtida a massa da matéria seca da planta inteira.

c. Comprimento, área, diâmetro, densidade da raiz e número de raízes laterais:

para a determinação do comprimento, da área e da densidade da raiz foi utilizado o sistema de análise Delta T Devices LTD. O sistema radicular permaneceu em solução de azul de metileno por aproximadamente 2 minutos. Em seguida, as raízes foram dispostas em bandeja com água destilada para o início das leituras de imagem utilizando-se um digitalizador Hewlett Packard, modelo 125C. Foi realizada a contagem do número de raízes laterais com auxílio de lupa com aumento de dez vezes.

d. Acúmulo de N: o material vegetal foi moído em moinho tipo Willey e, em seguida, determinaram-se os teores de N da raiz e da parte aérea, seguindo a metodologia descrita por Bataglia et al. (1983). Em função do teor desse nutriente e da massa da matéria seca, calculou-se o acúmulo de N nas raízes e na parte aérea (mg por planta). A partir do acúmulo de N nas raízes e na parte aérea, calculou-se a eficiência de utilização de N nesses órgãos = $(\text{massa da matéria seca do órgão})^2 / (\text{acúmulo de N no órgão})$ (FAGERIA, 1998).

f. Teor de clorofila foliar: foram coletados quatro discos de 0,35cm² e colocados no interior de tubo criogênico 12 x 45 mm de 2,0 mL, acrescentados com 1,5 mL de metanol. Seguidamente, em condições de penumbra, os tubos foram envolvidos com papel alumínio para permanecerem por 24 horas sob agitação em baixa temperatura. Após a agitação, os tecidos foliares foram retirados e a solução de extração contendo os pigmentos levada para leitura nos seguintes comprimentos de onda: Clorofila a - 661,6 nm; Clorofila b - 644,8 nm e Carotenóides (caroteno [c]+ xantofilas [x]) - 470 nm. Para o cálculo da concentração de clorofilas a e b e carotenóides foram utilizadas as seguintes fórmulas (Lichtenthaler, 1987): $C_a = 11,24 A_{661,6} - 2,04 A_{644,8}$; $C_b = 20,13 A_{644,8} - 4,19 A_{661,6}$; $C_a + C_b = 7,05$

$a_{661,6} + 18,09 a_{644,8}$ e $Cc+x = (1000 A_{470} - 1,90Ca - 63,14Cb)/214$. O conteúdo de clorofilas e carotenóides dos tecidos foram expressos em μg do pigmento pela área do disco foliar ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$).

3.1.6. Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância, pelo teste F, seguido da comparação de médias pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), utilizando-se do software Sisvar (FERREIRA, 2011).

3.2. Experimento II – Fotossíntese e metabolismo do Nitrogênio em tomateiro sob diferentes fontes de N e auxina exógena.

3.2.1. Local do trabalho

O trabalho foi desenvolvido em na Universidad Pública de Navarra (UPNA), Pamplona, Espanha, por meio de sistema hidropônico de cultivo.

3.2.2. Delineamento experimental

Utilizou-se do delineamento inteiramente casualizado, arranjos em esquema fatorial 4×2 , correspondendo a quatro tratamentos de N (N-NO_3^- ; N-NH_4^+ ; $\text{NO}_3^- + \text{AUX}$; deficiência de N) e dois genótipos de tomateiro (MT e *dgt*), com oito repetições. Cada unidade experimental constou de oito plantas cultivadas em vaso de polipropileno com volume de 2 L.

3.2.3. Material vegetal e condições de crescimento

Foi utilizado o mutante *diageotropico* (*dgt*) de tomateiro (cv Micro-Tom), que apresenta baixa sensibilidade à AUX. Gene defeituoso para biossíntese de uma ciclofilina, um possível componente da transdução do sinal (OH et al., 2006). Como controle, foi utilizado a cultivar Micro-Tom sem a mutação. A semeadura foi realizada em bandeija plástica preenchida com vermiculita:perlita na proporção 2:1 e irrigada com água destilada. Após dez dias da germinação as plântulas foram transferidas para o cultivo hidropônico. Utilizou-se solução nutritiva proposta por Hoagland e Arnon (1950), suplementada com nitrato na forma de nitrato de cálcio e amônio na forma de cloreto de amônio na concentração de 5,0 mM de N nos respectivos tratamentos, o valor pH da solução nutritiva foi mantido a $6,0 \pm 0,5$. Após 10 dias do transplântio foram submetidas aos tratamentos (5 mmol L^{-1} de NO_3^- ; 5 mmol L^{-1} de NH_4^+ ; 5 mmol L^{-1} de NO_3^- + AUX; e omissão de N) durante 14 dias. Foi utilizada uma concentração de $10 \mu\text{M}$ de AUX na forma de AIA (ácido indolacético). A solução nutritiva foi trocado a cada sete dias. As plantas foram cultivadas em câmara de crescimento sob condições controladas em 30/20 °C (dia / noite), 60/80% de umidade relativa, 16/8 h de fotoperíodo e $400 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ fluxo de fótons fotossintéticos (fluorescente: GTE Sylvania F96T12 / CV / VHO; incandescente de 40 W de Phillips). As amostras de raízes e parte aérea foram então congeladas em N_2 líquido para posteriores análises. No final do período de crescimento as plantas foram separadas em raízes e parte aérea e foram lavadas com água destilada, para secagem em estufa com circulação forçada de ar em temperatura de $75 \pm 0,5^\circ\text{C}$ até atingir peso constante. Após a secagem do material vegetal foi obtido a massa seca das raízes, parte aérea e planta inteira.

3.2.4. Avaliação de trocas gasosas

A concentração interna de CO_2 ($\mu\text{mol mol}^{-1}$); transpiração ($\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); condutância estomática ($\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e fotossíntese ($\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), foram determinadas usando um sistema de gás de troca portátil IRGA (LI-6200, Li-Cor,

Lincoln, NE, EUA). As medições foram realizadas em folhas novas completamente expandidas em diferentes plantas em cada tratamento aos 14 dias após a submissão das plantas aos tratamentos.

3.2.5. Extração e conteúdo de proteínas e glutamina sintetase

GS (L-glutamato: amoníaco-ligase; CE 6.3.1.2) foi extraído a partir da raiz e da parte aérea de plantas congeladas (0,5 g) e homogeneizou-se num almofariz contendo N₂ líquido e 5 mL do meio de extracção: 50 mM de tampão Tris-HCl (pH 8), 1 mM de EDTA, 10 mM 2-mercaptoetanol, ditioneitol 5 mM, 10 mM MgSO₄, 1 mM de cisteína e 0,6% de polivinilpirrolidona. Os extratos foram filtrados através de Miracloth (Calbiochem), centrifugado a 35,000 g durante 20 min a 4°C e os sobrenadantes foram utilizados para o ensaio. O conteúdo de proteína foi determinado de acordo com a metodologia proposta por Bradford (1976). A determinação da Glutamina sintetase foi determinada de acordo com a metodologia descrita por O'Neal e Joy (1973).

3.2.6. Acúmulo de nitrato e amônio

O conteúdo celular solúvel de NH₄⁺ e NO₃⁻ foi obtido por centrifugação (20.000 g, 30 minutos) dos tecidos (0,2 g de peso fresco de raízes e folhas) incubados em 1 ml de água Milli-Q a 80 °C durante 5 min. Os sobrenadantes (folhas e raízes) foram armazenados a -20 °C até à análise por cromatografia iônica. O Teor de amônio foi determinada utilizando um método isocrático com uma solução de 20 mM de ácido metanosulphonic como eluente num cromatógrafo iônico Dionex-DX500 (Dionex Corporation, CA, EUA) com colunas de íon Pac CG12A e Íon Pac CS12A. A detecção foi realizada utilizando um método de condutividade no detector electroquímico ED 40 (Dionex). As amostras foram injetadas com um amostrador automático AS40 (Dionex) a uma diluição 1:10 em Milli-Q água destilada. A determinação de amônio e nitrato foi descrita por Kjeldahl (AOAC, 1990).

3.2.7. Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância, pelo teste F, seguido da comparação de médias pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), utilizando-se do software Sisvar (FERREIRA, 2011).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 EXPERIMENTO I – A mutação *diageotropica* de tomateiro altera a eficiência do uso do nitrogênio

Para todas as variáveis de crescimento, exceto diâmetro e comprimento radicular, houve efeito da interação entre os genótipos de tomateiro e tratamentos de N. Porém, o diâmetro radicular foi influenciado pelos efeitos individuais dos genótipos de tomateiro e tratamentos de N, enquanto o comprimento radicular foi influenciado pelo efeito individual do genótipo. O mutante de tomateiro *dgt* apresentou maior altura de plantas quando comparado ao tomateiro MT na deficiência de N. Mas não houve diferença para diâmetro de caule, enquanto para as demais variáveis, o *dgt* apresentou valores inferiores ao MT (Figuras 2 e 3).

Para avaliar o papel do hormônio AUX em resposta à deficiência de N, plantas de tomateiro mutante na sensibilidade a AUX (*dgt*) e o tomateiro MT foram cultivadas sob condições nutricionais suficientes (+N) e deficiente em N (-N). As plantas de tomateiro MT cultivadas na presença de N, apresentaram maior altura de plantas e diâmetro de caule em relação ao tratamento com omissão de N. Entretanto, o tomateiro *dgt* apresentou aumento nos valores destas variáveis, quando houve deficiência de N no meio de cultivo (Figuras 2a e 2b).

A área foliar do tomateiro MT não diferenciou quando o N foi omitido da solução nutritiva, ao passo que o mutante *dgt* apresentou maior área foliar comparado às plantas cultivadas na presença de N. Quando se compara os genótipos, observa-se maiores valores para área foliar no tomateiro MT em relação ao *dgt*, tanto na ausência quanto na presença de N (Figura 2c). A área radicular das plantas de tomateiro MT diminuiu com a omissão de N em relação ao tratamento controle (+N). Entretanto, o tomateiro *dgt* não apresentou diferença quando o N foi omitido da solução (Figura 2d). O genótipo MT, em ambos os tratamentos de N, apresentou maior densidade radicular em comparação ao *dgt*. Entretanto, apenas no

genótipo MT foi observada diferenças entre os tratamentos de N para DenR (Figura 3a).

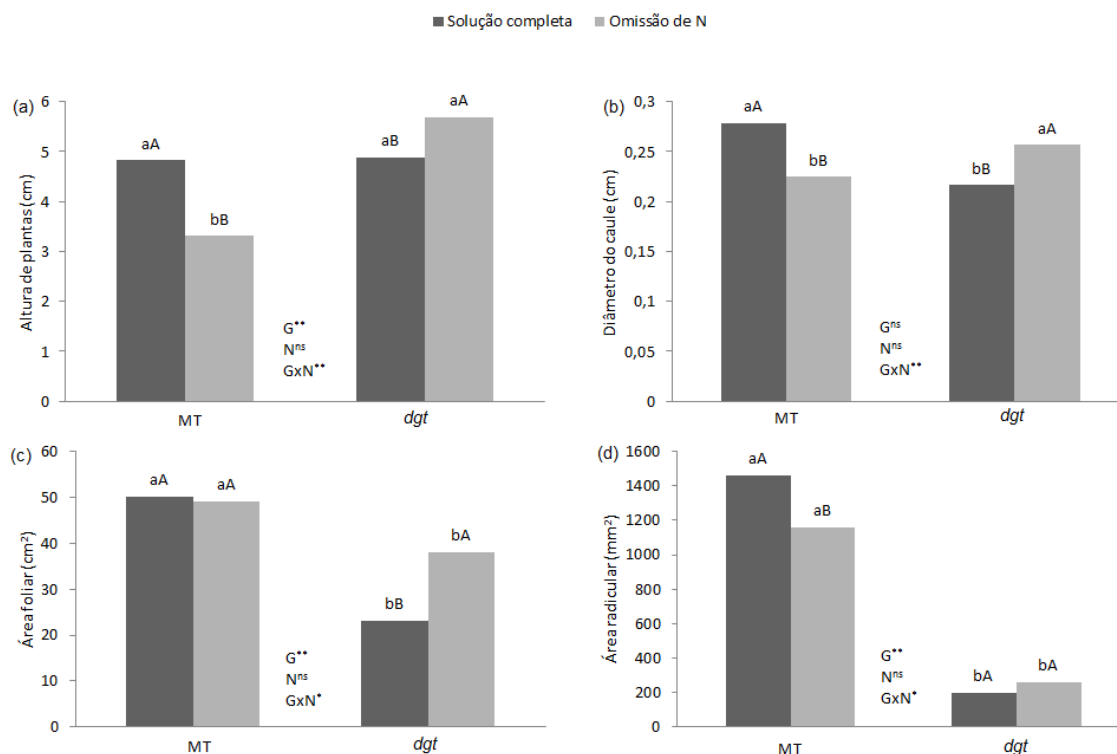


Figura 2. Altura de plantas (a), diâmetro do caule (b), área foliar (c) e área radicular (d) de plantas de dois genótipos (G) do tomateiro MT (controle) e *dgt* (baixa sensibilidade a AUX), cultivados em solução nutritiva sob deficiência (omissão de N) e suficiência de nitrogênio (Solução completa). **, * e ns = significativo ($P < 0,01$); ($P < 0,05$) e não significativo, respectivamente, pelo teste F. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem a presença de N dentro dos genótipos MT e *dgt*; e minúsculas, diferem os genótipos nos tratamentos, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

O maior crescimento do mutante *dgt*, no meio de cultivo com omissão de N, mostra que esse tipo de mutação possibilita estratégias de desenvolvimento diferentes do MT em condições de baixa disponibilidade ou de omissão de N no meio de cultivo (Figura 2). Estes resultados são divergentes com os apresentados na literatura, que tem relatado que a deficiência de N rapidamente retarda o crescimento das plantas, enquanto o crescimento da raiz pode ser inibido.

O mutante *dgt* apresentou menor área foliar comparado com o MT (Figura 2), o que parece estar associado à pequena área das células epidérmicas do *dgt*

(CARVALHO et al., 2011). Esses resultados estão de acordo com o papel da AUX, devido sua importância para processos celulares básicos de crescimento, como divisão e expansão celular (JONES et al., 1998). Entretanto, foi uma surpresa que o *dgt* tenha apresentado maior altura de plantas, área foliar, diâmetro do caule e produção de massa seca da raiz e parte aérea sob condição de deficiência de N. As plantas deficientes em N apresentam normalmente o crescimento retardado e o N é mobilizado nas folhas adultas e translocado para as mais novas, ocorrendo os sintomas típicos de deficiência, como o aumento da clorose e senescência de folhas mais velhas (PRADO, 2008). Dessa forma, surge interesse sobre o metabolismo do mutante *dgt* sob essa condição (-N), uma vez que, o mesmo não apresentou sintomas de deficiência nutricional em nível de tecido, que é uma clorose das folhas velhas (PRADO, 2008), como também não apresentou redução nos teores dos pigmentos foliares (Figura 4).

A massa seca da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e da planta inteira (MSPI) do genótipo MT diminuiu com a omissão de N da solução nutritiva. Por outro lado, o genótipo *dgt* apresentou aumento na MSPA e MSPI sob deficiência de N. Quando comparado os genótipos, observa-se maiores valores da MSPA, MSR e MST no tomateiro MT em relação ao *dgt* na presença de N. Na omissão de N no meio de cultivo, não houve diferença entre os genótipos estudados (Figuras 3b, 3c e 3d). O número de raízes laterais (RL) do tomateiro MT cultivado em suprimento de N não diferenciou quando o N foi omitido da solução nutritiva, ao passo que, o mutante *dgt* apresentou aumento no número de RL na solução sem N, em relação as plantas cultivadas na presença deste nutriente (Figura 3e).

O maior número de RLs no *dgt* na deficiência de N diverge do que tem sido observado na literatura, mostrando também diferença na arquitetura das raízes. Krouk et al. (2010) relataram que sob baixa disponibilidade de N ocorre um crescimento maior da raiz principal e a inibição de RLs, devido os genes *NRT1.1* reprimir a acumulação de AUX nos ápices de raízes laterais (RL) de plantas cultivadas em condições de uma baixa concentração de NO_3^- , levantando assim a questão de como o transportador de NO_3^- pode afetar a localização de hormônio

quando o NO_3^- não está presente, entretanto resposta contrária foi observada no *dgt* em condições de deficiência de N. Estes processos são muito bem conhecidos por estar sob o controle de sinalização hormonal. Não é surpreendente observar que o NO_3^- também controla a biossíntese e transporte do hormônio (KROUK, 2016).

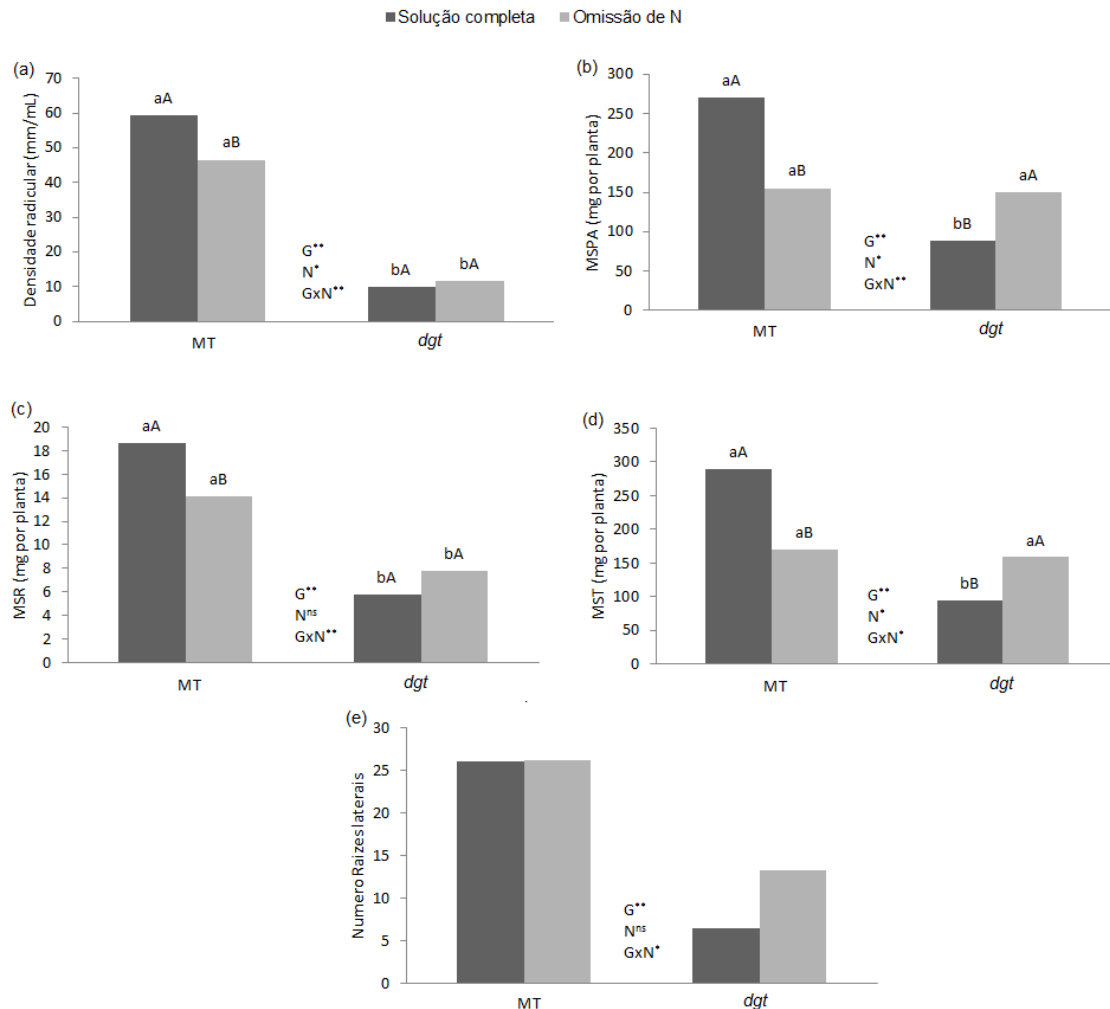


Figura 3. Densidade radicular (a), massa seca da parte aérea (b), massa seca da raiz (c) e massa seca total (d) e número de raízes laterais (e) de plantas de dois genótipos (G) do tomateiro MT (controle) e *dgt* (baixa sensibilidade a AUX), cultivados em solução nutritiva sob deficiência (omissão de N) e suficiência de nitrogênio (Solução completa). **; * e ^{ns} = significativo ($P < 0,01$); ($P < 0,05$) e não significativo, respectivamente, pelo teste F. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem a presença de N dentro dos genótipos MT e *dgt*; e minúsculas, diferem os genótipos nos tratamentos, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Esse resultado obtido na deficiência de N é inédito e ainda mais surpreendente (Figura 3e), uma vez que uma maior produção de RL para o tomateiro *dgt* não foi observado mesmo com a aplicação de AUXs exógenas (IVANCHENKO et al., 2006, 2015). A literatura relata que o *dgt* não apresentava alterações relacionadas com o transporte de AUX (DANIEL et al., 1989; MUDAY et al., 1995), entretanto posteriormente Ivanchenko et al. (2015) comprovaram que a mutação *diageotropica* apresenta, sim, mudanças relacionadas ao transporte de AUXs.

Na omissão de N da solução nutritiva, ocorreu diminuição nos teores de clorofila *a* e *b* do genótipo MT, em relação ao suprimento de N. Para mutante *dgt*, não houve diferença nos teores de clorofila *a* e *b* nas duas concentrações de N estudadas (Figuras 4a e 4b).

Entretanto, tanto na presença quanto na ausência de N, os teores de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila *a+b* e carotenoides do genótipo *dgt* foram superiores aos do genótipo MT. A mesma tendência foi observado para as variáveis clorofila *a+b* e carotenoides na presença e na ausência de N (Figuras 4a e 4b). Todos os pigmentos avaliados foram superiores no tomateiro *dgt* comparado ao genótipo MT. Entretanto os pigmentos no tomateiro MT diminuíram com a deficiência de N em relação ao tratamento controle (+N). Por outro lado, o tomateiro *dgt* não apresentou diferença quando omitido N da solução (Figura 4).

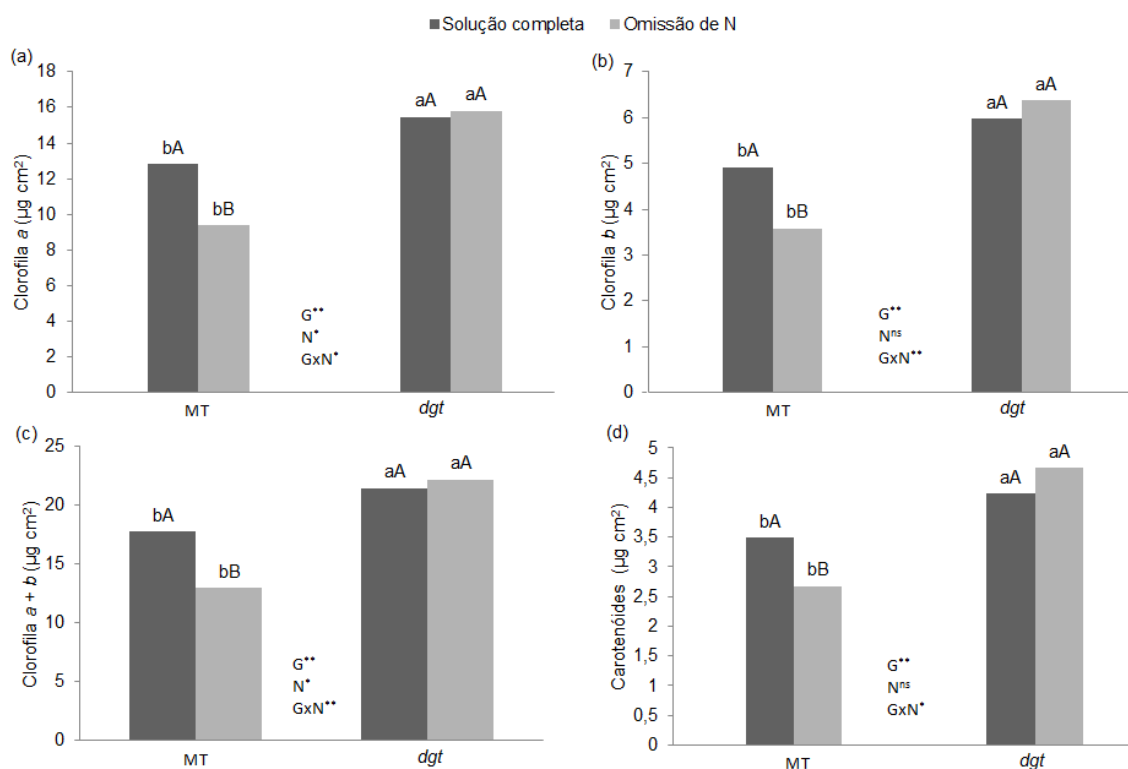


Figura 4. Teor de clorofila *a* (a), clorofila *b* (b), clorofila *a+b* (c) e carotenóides (d) de plantas de dois genótipos (G) do tomateiro MT (controle) e *dgt* (baixa sensibilidade a AUX), cultivados em solução nutritiva sob deficiência (omissão de N) e suficiência de nitrogênio (Solução completa). **: * e ^{ns} = significativo ($P < 0,01$); ($P < 0,05$) e não significativo, respectivamente, pelo teste F. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem a presença de N dentro dos genótipos MT e *dgt*; e minúsculas, diferem os genótipos nos tratamentos, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Na omissão de N da solução nutritiva ocorreu diminuição do acúmulo de N na raiz e na parte aérea do genótipo MT, porém o genótipo *dgt* não apresentou diferença no acúmulo de N na raiz nos tratamentos de N (Figura 5). Quando o nitrogênio não foi fornecido ao meio de cultivo, o *dgt* apresentou maior acúmulo de N na parte aérea, comparado às plantas cultivadas com suprimento deste nutriente. (Figuras 5a e 5b). O tomateiro MT apresentou maior eficiência de uso do N na raiz e na parte aérea quando o foi fornecido N na solução nutritiva (Figuras 5c e 5d). Por outro lado, no genótipo *dgt* a eficiência de uso do N na raiz e na parte aérea foi maior com a omissão de N (Figuras 5c e 5d).

O menor acúmulo de N na raiz e na parte aérea do tomateiro MT cultivado na omissão de N (Figuras 5a e 5b) podem ter influenciado na diminuição das variáveis

de crescimento das plantas, especialmente na altura de plantas, no diâmetro do caule e na produção de massa seca (Figuras 2 e 3), como também nos pigmentos foliares (Figura 4). Sabe-se que a deficiência deste elemento resulta, na maioria das vezes, em diminuição do crescimento, pois o N incrementa a síntese proteica e fotossíntese, e sua limitação muitas vezes estar associado à aceleração da senescência foliar (FLORES et al., 2016, KOOHKAN; MAFTOUN, 2016), sendo o nutriente mais limitante para a produção de biomassa (YONG et al., 2010).

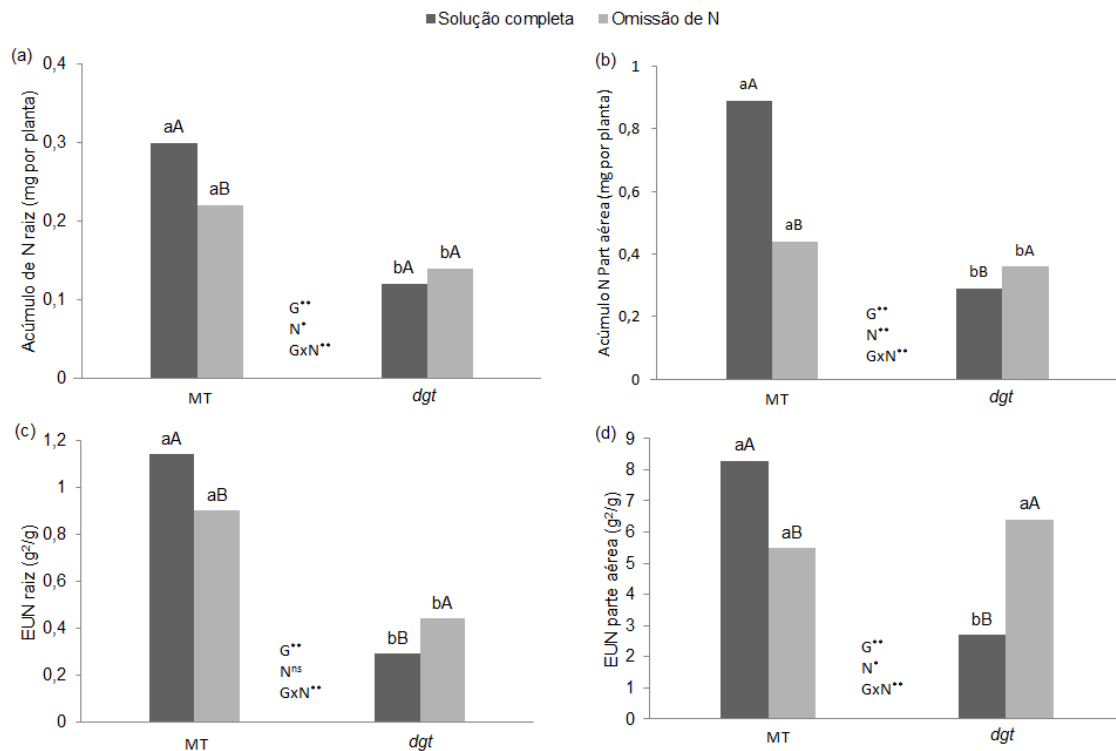


Figura 5. Acúmulo de nitrogênio na raiz (a) e na parte aérea (b), e eficiência de utilização de N na raiz (c) e na parte aérea (d) na massa seca de plantas de dois genótipos (G) do tomateiro MT (controle) e *dgt* (baixa sensibilidade a AUX), cultivados em solução nutritiva sob deficiência (omissão de N) e suficiência de nitrogênio (Solução completa). **, * e ^{ns} = significativo ($P < 0,01$); ($P < 0,05$) e não significativo, respectivamente, pelo teste F. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem a presença de N dentro dos genótipos MT e *dgt*; e minúsculas, diferem os genótipos nos tratamentos, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Essas respostas divergentes que o tomateiro *dgt* apresentou para a maioria das variáveis comparadas ao controle (MT) e ao que a literatura relata, podem estar relacionadas a um aumento na EUN na raiz e na parte aérea do mutante *dgt* sob

omissão de N em relação à presença de N. Já o mutante MT na omissão de N apresentou diminuição na EUN em ambos os órgãos das plantas em relação ao suprimento deste nutriente na solução nutritiva. Provavelmente, essa resposta pode estar associada a diminuição da densidade de raízes do tomateiro MT nestas condições de cultivo, uma vez que o maior comprimento e densidade radicular são duas características das raízes importantes para uma maior EUN em condições de baixa disponibilidade de N (JU et al., 2015). Entretanto, Abanvoli et al. (2016) estudando a EUN em diferentes genótipos de tomateiro relata que a EUN pode ser mais dependente da assimilação N e do acúmulo de N na raiz do que na parte aérea. Essa dependência também foi observada neste trabalho nos tomateiros MT e *dgt* nos dois tratamentos de N (Figura 5). Dessa forma os resultados indicam que para a produção do tomateiro as concentrações de nitrogênio podem ser diminuídas no meio de cultivo, tornando as plantas capazes de mudar a arquitetura das raízes para melhorar a eficiência no uso de nitrogênio (ZHU et al., 2015).

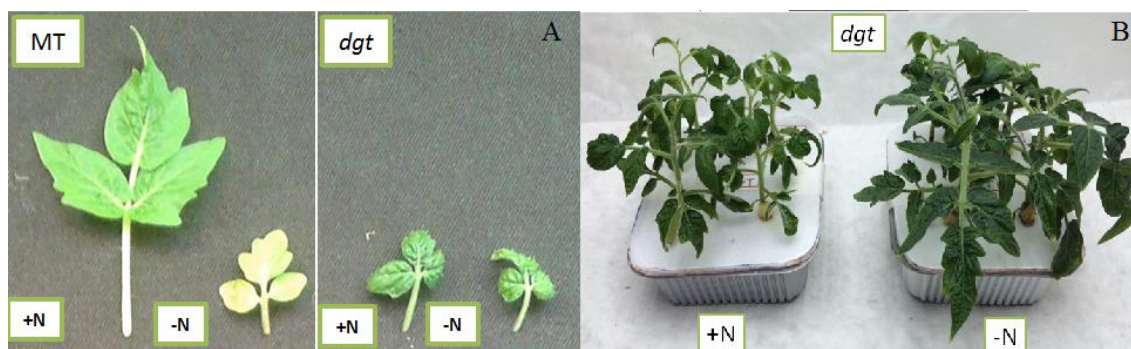


Figura 6. Aspecto das folhas (A) de MT (controle) e *dgt* (baixa sensibilidade a AUX), cultivados em solução nutritiva sob deficiência (omissão de N) e suficiência de nitrogênio (Solução completa), bem como aspecto vigoroso de *dgt* em -N quando comparado à +N (B).

O tomateiro mutante *dgt* uma ferramenta útil para estudar a sinalização da AUX no tomateiro, como a interação entre AUX e fatores nutricionais. Porém, ainda é incerto de que forma a mutação atua na sinalização da AUX, por isso o mutante *dgt* pode ser caracterizado como uma ferramenta genética importante para a investigar e elucidar o mecanismo da percepção e ação das AUXs, e sua interação com outros fatores. Mediante as respostas encontradas nesse trabalho fica mais

evidente a necessidade de se pesquisar ainda mais a respeito do tema para elucidar as respostas divergentes, do tomateiro *dgt* sob deficiência de N. Portanto, os resultados apresentados no presente estudo podem contribuir para a agricultura, com o aumento da produtividade usando menores quantidades de fertilizantes nitrogenados e com melhoria da EUN pelas culturas, como o tomateiro.

4.2. EXPERIMENTO II – Fotossíntese e metabolismo do nitrogênio em tomateiro sob fontes de N e auxina exógena

Para os tratamentos com as fontes de N e auxina, a produção de massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da planta inteira (MSPI) foi menor em plantas supridas com amônio nos genótipos MT e *dgt*, enquanto que a massa seca da raiz foi menor apenas no MT (Figuras 7a, 7b e 7c). Essa diminuição no crescimento com o suprimento de NH_4^+ foi observada na cultura do tomate (HORCANI et al., 2011; BARRETO et al., 2016), do milho (CAMPOS et al., 2015) e do pepino (CAMPOS et al., 2016). Essa redução no crescimento das raízes e parte aérea dos genótipos de tomateiro no tratamento N- NH_4^+ ocorreu, provavelmente, pelo fato da concentração de amônio (5 mmol L^{-1}) ter sido elevada, provocando fitotoxicidade. A menor produção de biomassa do tomateiro em concentrações elevadas de NH_4^+ está relacionada com um aumento no teor de malondialdeído (MDA) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) nas folhas das plantas, isto foi relatado por Barreto et al. (2016) em trabalhos com plantas de tomateiro, havendo incremento nos teores deste composto em concentrações acima de 5 mmol L^{-1} de NH_4^+ no meio de cultivo. É relatado que o alto teor de MDA, que é um produto da peroxidação lipídica é um indicador de estresse oxidativo em plantas (NOGUEIROL et al., 2016).

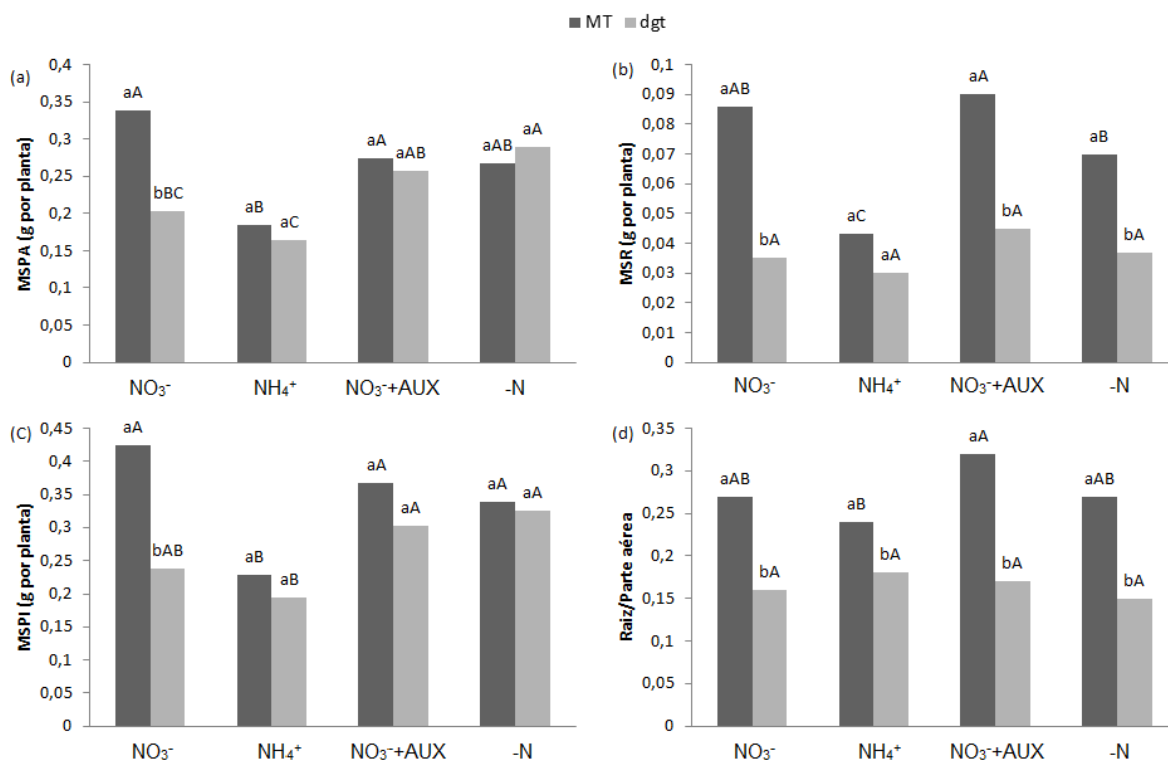


Figura 7. Matéria seca da parte aérea (a) da raiz (b) e da planta inteira (c) e relação raiz/parte aérea de plantas de dois genótipos de tomateiro, MT e *dgt*, cultivados sob diferentes fontes de N e auxina exógena. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem os tratamentos com N dentro dos genótipos MT e *dgt*; e minúsculas, diferem os genótipos dentro dos tratamentos com N, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Aliado a este fato, possivelmente o excesso NH_4^+ proporcionou menor crescimento das raízes primárias devido à inibição do alongamento e da divisão celular nas zonas meristemáticas e à diminuição da emissão de raízes laterais (PETRICKA; WINTER; ANNU, 2012; LIU et al., 2013). Nessas condições, há o aumento do efluxo de NH_4^+ na zona meristemática, conferido pela ação da GDP-manose pirofosforilase (GMPase), que apresenta alta sensibilidade ao NH_4^+ , em contraste com maior influxo desse íon nas células das raízes (LI et al., 2014). Além disso, o menor crescimento do sistema radicular com o fornecimento de NH_4^+ pode também estar relacionado com a diminuição dos índices de AIA (STEBAN et al., 2016). Em estudo sobre estresse amoniacal, avaliando desbalanço hormonal em

Arabidopsis thaliana Yang et al. (2015) consolida ainda mais essa relação ao identificarem uma co-regulação de genes sensíveis a auxina, que foram diferencialmente expressos em função das condições de NH_4^+ . Outra relação evidente entre o NH_4^+ e as AUXs, é que o excesso de NH_4^+ inibe o crescimento radicular, em parte devido à acidificação do pH externo que resulta na excreção de prótons, pois o pH celular determina o estado de protonação do ácido indol-acético e gradientes correspondentes influenciam o fluxo de auxina célula-a-célula (YANG et al., 2015).

No entanto, a diminuição na matéria seca da planta inteira no tratamento com NH_4^+ comparado ao NO_3^- foi de 47 e 19%, para o MT e *dgt*, respectivamente. Possivelmente as concentrações de NH_4^+ no citoplasma das células, causou menor toxicidade às plantas de *dgt*, pois as mesmas podem adotar diferentes estratégias, incluindo a regulação do transportador de amônio (LANQUAR et al., 2009) e o aumento da assimilação desse íon (SETIEN et al., 2014). As respostas à tolerância ao estresse que cada espécie ou genótipo possui, podem ainda ser determinado por algumas características, como o local de incorporação do N amoniacal em orgânico (LASA et al., 2002; CRUZ et al., 2011), e pelas atividades enzimáticas que participam no processo de desintoxicação do excesso de N (DOUBNEROVÁ; RYSLAVÁ, 2011), atenuando dessa forma o estresse ocorrido nas plantas.

Essa baixa tolerância ao excesso de amônio em plantas de tomate pode estar associada ao local de assimilação do amônio, pois a maior parte do NH_4^+ é assimilado na parte aérea (MAGALHÃES; BARRETO, 1989), e também pelo nível da atividade enzimática (glutamato desidrogenase e glutamina sintetase), pois maiores atividades das enzimas assimilatórias de N ajudam na desintoxicação de amônio (CRUZ et al., 2006).

Verificou-se maiores valores de matéria seca da parte aérea para o tomateiro MT cultivado com o fornecimento de N-NO_3^- e de $\text{N-NO}_3^- + \text{AUX}$, mas não diferenciou do tratamento com deficiência de N (-N). Por outro lado, na omissão de N, as plantas deste genótipo apresentaram menor produção de matéria seca nas raízes comparadas às plantas supridas com NO_3^- (Figuras 7a e 7b). Essa resposta do MT

na deficiência de N, já era esperada, uma vez que o N incrementa a síntese proteica e fotossíntese, e sua limitação muitas vezes está associada à aceleração da senescência (KOOHKAN; MAFTOUN, 2016), sendo este nutriente, o mais limitante para a produção de biomassa (YONG et al., 2010). Já para o genótipo *dgt*, os maiores valores de biomassa foram observados na omissão de N (-N), e no tratamento com NO_3^- + AUX (Figura 7). Na deficiência de N este mutante apresentou estratégias de desenvolvimento diferentes do MT. O maior crescimento de plantas em condições de deficiência de N contraria outros resultados reportados na literatura, que tem relatado que a deficiência de N rapidamente retarda o crescimento das plantas, inibindo também o crescimento da raiz (MARSCHNER, 2012).

Em todos os tratamentos sobre N, o tomateiro MT apresentou maior MSR comparado ao *dgt*. Isso se deve as características diferentes entre os dois genótipos, uma vez que a sensibilidade reduzida à auxina, observada no *dgt* proporciona uma diminuição na produção de matéria seca deste mutante (CARVALHO et al., 2011). Entretanto, no genótipo MT os maiores valores de MSR foram observados nos tratamentos N- NO_3^- e NO_3^- + AUX. Esse resultado deve-se as funções desempenhadas na planta pelo fitohormônio, pois a auxina desempenha papel fundamental no crescimento da raiz principal, das raízes laterais e no desenvolvimento de pelos radiculares (LAVENUS et al., 2013; MOUNIER et al., 2013; SAINI et al., 2013).

A toxicidade causada pelo excesso de NH_4^+ reflete no menor crescimento das plantas e alteração na relação raiz/parte aérea. Outro sintoma é a ocorrência de clorose, seguida de necrose nas folhas do tomateiro (HORCHANI et al., 2011). Entretanto, verificou-se menor relação raiz/parte aérea apenas no tomateiro MT, indicando uma menor sensibilidade do genótipo *dgt* as fontes de N e auxina exógena (Figura 7d).

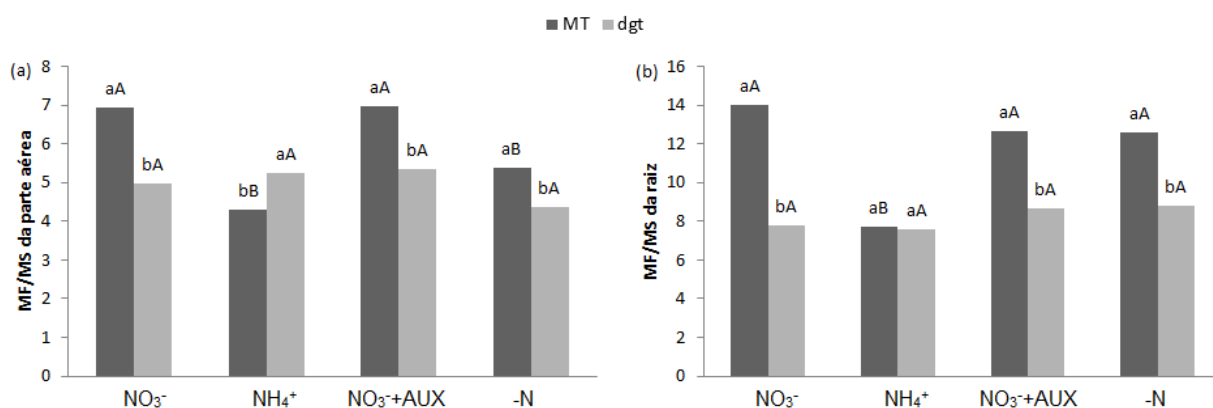


Figura 8. Relação massa fresca e massa seca da raiz (a) e da parte aérea (b) de plantas de dois genótipos de tomateiro, MT e *dgt*, cultivados sob diferentes fontes de N e auxina. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem os tratamentos com N dentro dos genótipos MT e *dgt*; e minúsculas, diferem os genótipos dentro dos tratamentos com N, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Comparando-se os genótipos de tomateiro em função das fontes de N verifica-se que o MT apresentou maiores relações entre a massa fresca e massa seca da parte aérea e da raiz (MF/MS) em todos os tratamentos, exceto para a fonte N-NH₄⁺ (Figuras 8a e 8b). O menor desenvolvimento das plantas cultivadas em solução com fornecimento de amônio pode estar relacionado com o fato dessa fonte de N interferir na diminuição da absorção de nutrientes catiônicos, como K⁺, Mg²⁺ e Ca²⁺ (ROOSTA; SCHJOERRING, 2007; BRITO et al., 2001; MARTÍNEZ-ANDÚJAR et al., 2013). Como consequência, um menor potencial osmótico reduz a absorção de água (YANG et al., 2015), diminuindo assim a relação MF/MS. Por outro lado, a menor relação MF/MS no *dgt*, pode estar relacionado ao menor tamanho das células do *dgt*, que poderiam estar armazenando uma menor quantidade de água.

Para os dois genótipos, MT e *dgt*, observa-se que os acúmulos de NO₃⁻ nas folhas, na raiz e na planta inteira foram menores em plantas supridas com amônio e na omissão de N (Figura 9). Por outro lado, no tratamento com NO₃⁻ + AUX as plantas de ambos os genótipos apresentaram maior acúmulo de NO₃⁻ em todos os órgãos, com superioridade para o genótipo *dgt* nas raízes (Figura 9b). Possivelmente, isso ocorreu devido a AUX ter promovido um maior crescimento radicular, favorecendo uma maior eficiência de absorção de N, e maior acúmulo de NO₃⁻. Fato mais acentuado no *dgt*, uma vez que seu sistema radicular é pouco

desenvolvido, devido à baixa sensibilidade a AUX (HO et al., 2006; CARVALHO et al., 2011).

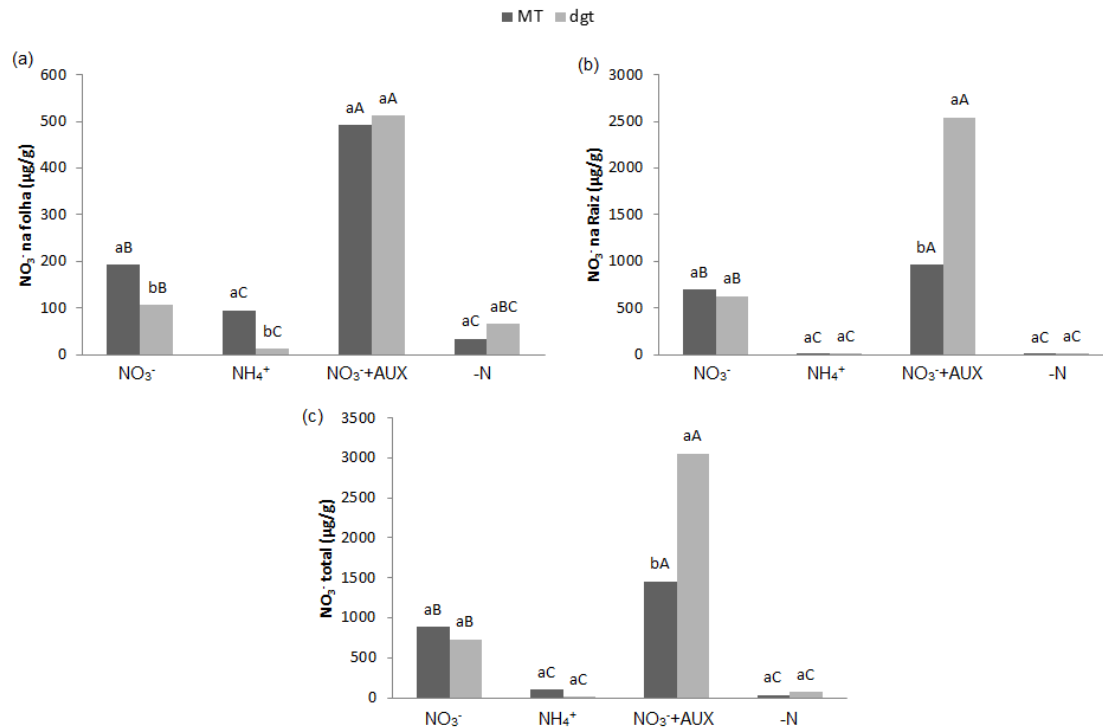


Figura 9. Teor de nitrato na massa fresca da raiz (a), das folhas (b) e da planta inteira (c) de dois genótipos de tomateiro, MT e *dgt*, cultivados sob diferentes fontes de N e auxina exógena. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem os tratamentos com N dentro dos genótipos MT e *dgt*; e minúsculas, diferem os genótipos dentro dos tratamentos com N, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

A presença de NO_3^- foliar no tratamento N- NH_4^+ e com omissão de N, para os dois genótipos, pode estar relacionado ao armazenamento deste íon nos vacúolos das células durante a fase de adaptação ao cultivo hidropônico (10 dias de cultivo), onde a solução nutritiva possuía nitrato como fonte de N.

O maior acúmulo de NH_4^+ na raiz e na parte aérea foi observado no tratamento N- NH_4^+ nos dois genótipos estudados (Figura 10). Entretanto, o acúmulo de NH_4^+ nas raízes foi maior no genótipo *dgt* em relação ao MT, no tratamento N- NH_4^+ (Figura 10b). A capacidade de absorção de amônio pelas plantas dependerá tanto das atividades de assimilação de N, bem como da capacidade da célula ou

tecido proporcionar esqueletos de carbono e incorporar NH_4^+ (HORCHANI et al., 2010).

Um dos principais fatores relacionado ao acúmulo de amônio é uma menor atividade da glutamina sintetase (GS) (CRUCHARRA et al., 2013). Entretanto, essa relação não foi observada nesse trabalho (Figura 10), possivelmente devido o amônio ter sido fornecido como única fonte de N, o que pode responder ao sequestro de amônio nas raízes, principalmente nos vacúolos (CRUZ et al., 2006; CANALES et al., 2010), atuando como um mecanismo para evitar o seu transporte para a parte aérea, que é descrito como um órgão mais sensível à acumulação de amônio (SCHJOERRING et al., 2002). Esta estratégia pode ser considerada como um primeiro passo para conferir tolerância de amônio em tomateiro, uma vez que as raízes apresentaram maiores teores de NH_4^+ nas plantas do *dgt* (Figura 10b), e esse genótipo apresentou uma menor diminuição de biomassa em relação ao MT, com a adoção da fonte de amônio, comparado ao nitrato (Figura 7).

A presença de NH_4^+ no tratamento N-NO_3^- pode estar relacionada à redução do nitrato a nitrito, posteriormente nitrito a amônio pelas enzimas, redutase do nitrato e redutase do nitrito, respectivamente (PRADO, 2008). No entanto, no futuro, em abordagens experimentais, será necessário usar $^{15}\text{N-NH}_4^+$ marcado, com o objetivo de atribuir um papel fisiológico conclusivo para as enzimas assimilatórias de N na nutrição amoniacal.

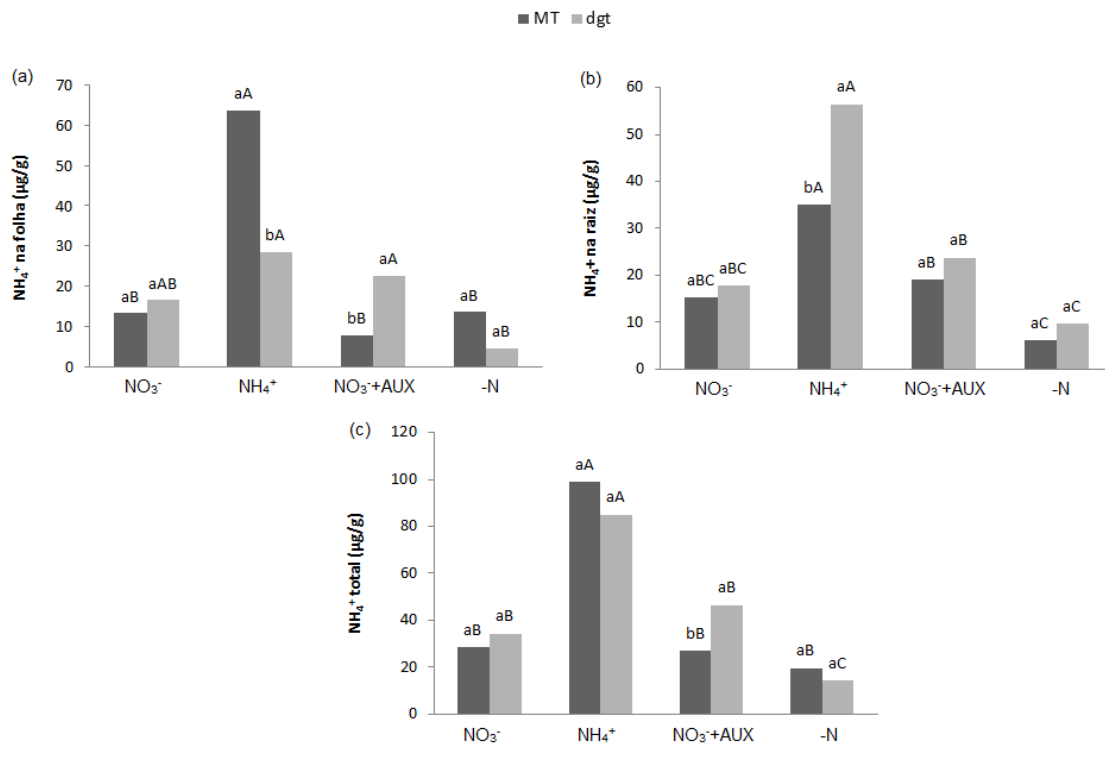


Figura 10. Teor de amônio na massa fresca da raiz (a) das folhas (b) e da planta inteira (c) de dois genótipos de tomateiro, MT e *dgt*, cultivados sob diferentes fontes de N e auxina. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem os tratamentos com N dentro dos genótipos MT e *dgt*; e minúsculas, diferem os genótipos dentro dos tratamentos com N, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

No que diz respeito às enzimas envolvidas no metabolismo C/N das plantas de tomateiro, a omissão de N na solução nutritiva ($-\text{N}$) resultou num aumento da expressão da glutamina sintetase (GS) nas raízes do genótipo *dgt* (Figura 11b). No entanto, a atividade da GS nas raízes e nas folhas do MT foi reduzida com aplicação de AUX exógena e N-NH_4^+ (Figuras 11a e 11b). Por outro lado, no tomateiro *dgt* houve diminuição da atividade da GS nas raízes com N amoniacal. Estes resultados são divergentes aos encontrados na literatura, sendo que Setien et al. (2014) e Martinez-andujar et al. (2013) verificaram aumento da GS com fornecimento de amônio em plantas de tomate, reforçando a afirmação de que este mutante apresenta resposta diferente quanto ao fornecimento de NH_4^+ no meio de cultivo.

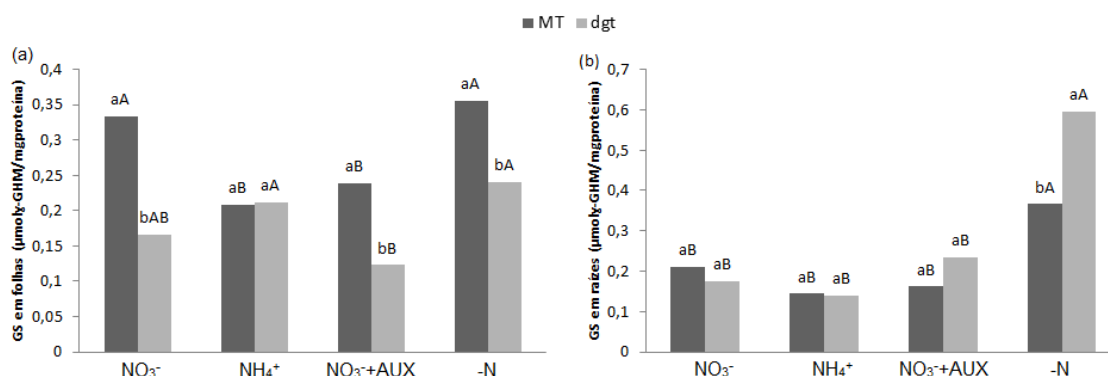


Figura 11. Atividade da enzima GS na raiz (a) e nas folhas (b) de dois genótipos de tomateiro, MT e *dgt*, cultivados sob diferentes fontes de N e auxina exógena. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem os tratamentos com N dentro dos genótipos MT e *dgt*; e minúsculas, diferem os genótipos dentro dos tratamentos com N, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

O aumento da atividade da GS, enzima chave para a incorporação do amônio em cadeias carbônicas, reflete em uma maior eficiência de uso do N pela planta (BITTSÁNSZKY et al., 2015). A GS está envolvida em muitos processos fisiológicos, incluindo assimilação de nitrogênio, remobilização, armazenamento e reutilização, senescência foliar e resistência a estresse (BERNARD; HABASH 2009; QIU et al., 2009; FERRARO et al., 2015). Isso pode responder ao efeito inédito no desenvolvimento do *dgt* em condições de omissão de N, pois esse mutante apresentou maior produção de biomassa da parte aérea na deficiência de N, comparando ao fornecimento de nitrato e amônio (Figura 7), e maior atividade da GS na raiz e na parte aérea (Figura 11). Apontando para uma maior eficiência de utilização de N.

O aumento da atividade GS no genótipo *dgt* durante a fase de omissão de N, ocorreu devido a utilizou o amônio proveniente da redução do NO₃⁻ absorvido na fase de adaptação a solução nutritiva. A explicação para tal resultado pode estar na principal rota para a assimilação primária de amônio em plantas (GS/GOGAT) sob condições normais de crescimento (MCALLISTER et al., 2012; THOMSEN et al., 2014). Além da assimilação de amônio primário, as enzimas GS e GOGAT também

desempenham papéis importantes na re-assimilação de amônio produzido durante o ciclo de nitrogênio (BERNARD; HABASH, 2009),

Além disso, espécies de plantas que assimilam NH_4^+ nas raízes apresentaram tolerância à toxicidade deste íon, enquanto que, às espécies sensíveis assimilam o amônio na parte aérea (LASA et al., 2002; HORCANI et al., 2010). Um fator crítico na maioria das plantas que apresentam tolerância ao amônio é a sua capacidade de desintoxicar amônio a partir do aumento da atividade enzimática da GS nas raízes (CRUZ et al., 2006; EL OMARI et al., 2010).

Neste mesmo sentido, a sensibilidade das plantas ao efeito tóxico do amônio também tem sido ligada aos hormônios vegetais, como a auxina. O possível envolvimento das AUXs nesta sensibilidade amoniacal pode estar relacionado com a ineficiente regulação da arquitetura da raiz sob elevada concentração de NH_4^+ (LI et al., 2011). Havendo severas alterações nas respostas ao gravitropismo sob estresse amoniacal (LIU et al., 2013). Entretanto, foi observado no presente trabalho menor perda de biomassa no *dgt*, o que pode ser explicado pelo fato deste genótipo já apresentar essas limitações em virtude da sua mutação *diageotropica* (HO et al., 2006). Dessa forma, a baixa sensibilidade à auxina no mutante de tomate *dgt* culminou no aumento da tolerância a toxicidade amoniacal.

Para ambos os genótipos, a concentração de proteínas solúveis foi maior nas folhas do que nas raízes (Figura 12). Isso pode ser explicado pelo fato de que, independente dos tratamentos aplicados, o amônio livre foi rapidamente incorporado em aminoácidos e, posteriormente, em proteínas solúveis. No tomateiro a maior atividade da GS ocorre nas folhas (HORCANI et al., 2011).

Na omissão de N (-N) foi observada menor produção de proteínas nas folhas e nas raízes nos dois genótipos estudados. Esse resultado é bem relatado na literatura, pois o N é componente fundamental das proteínas (MARSCHNER, 2012; MUÑOZ-HUERTA et al., 2013; SOUZA et al., 2016). No *dgt* o maior teor de proteína nas raízes foi observado no tratamento N-NH_4^+ , resultado semelhante ao obtido por Setien et al. (2014), que verificaram aumento de proteína com a nutrição amoniacal.

Plantas cultivadas exclusivamente com NH_4^+ normalmente apresentam alta capacidade para formação de proteínas solúveis (LASA et al., 2001). Entretanto, nas folhas, a produção de proteínas com o tratamento amoniacal não apresentou superioridade em relação aos tratamentos com nitrato. Isso ocorreu devido a concentração de 5 mmol L^{-1} de NH_4^+ ter causado toxicidade às plantas, comprometendo a produção dessas proteínas nos tecidos foliares.

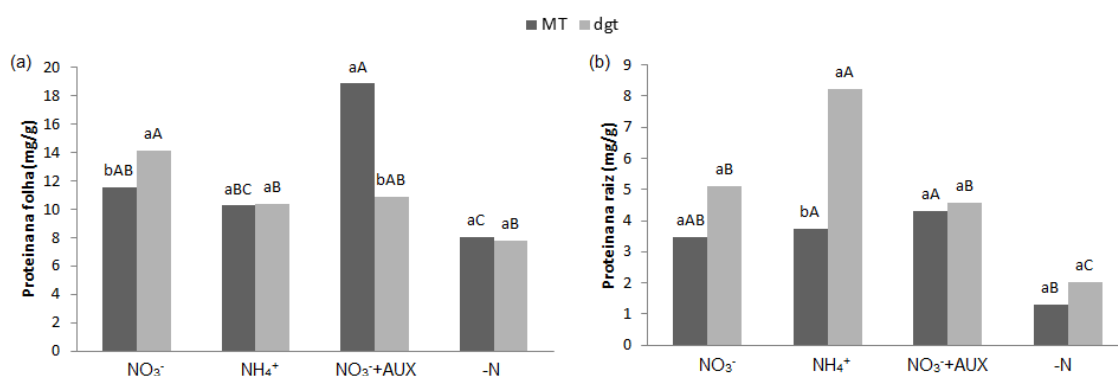


Figura 12. Teor de proteína na massa fresca da raiz (a) e das folhas (b) de dois genótipos de tomateiro, MT e *dgt*, cultivados sob diferentes fontes de N e auxina. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem os tratamentos com N dentro dos genótipos MT e *dgt*; e minúsculas, diferem os genótipos dentro dos tratamentos com N, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

O aumento no teor de proteína sob nutrição de amônio nas raízes do *dgt* (Figura 12b), contribuiu para a menor perda de biomassa (Figura 9). Este fato sugere que o *dgt* pode ser considerado como um genótipo com maior tolerância ao excesso de NH_4^+ , reforçando a afirmação de que a tolerância ao efeito tóxico deste cátion difere entre os genótipos, assim como relatado entre diferentes cultivares de ervilha (CRUZ et al., 2011), de tomate (HORCANI et al., 2011). A diferente sensibilidade dos genótipos à nutrição amoniacal parece estar diretamente relacionada com a elevada capacidade de acumular NH_4^+ nos diversos órgãos (HORCHANI et al., 2010). No presente estudo, quando o amônio foi a fonte de N utilizada, parte desta forma de N foi acumulada nas raízes do *dgt* (Figura 10), e principalmente assimilado e posteriormente também acumulado na forma de proteínas solúveis (Figura 12).

O tomateiro MT apresentou maior taxa fotossintética líquida comparado ao *dgt* (Figura 13a). Em ambos os genótipos o tratamento N-NH₄⁺ apresentou os menores valores de fotossíntese líquida (Figura 13a). Elevadas concentrações de NH₄⁺ diminui a fotossíntese drasticamente, pois o acúmulo de amônio danifica as membranas celulares (BORGOGNONE et al., 2013). Isso ocorre em função de altas concentrações de NH₄⁺, ocasionar estresse e menor atividade fotossintética, promovendo peroxidação lipídica, provocando deterioração das folhas e diminuindo a área fotossinteticamente ativa (BORGOGNONE et al., 2013; HUANG et al., 2013). O excesso de amônio pode ocasionar diminuição do valor do pH intracelular e desequilíbrio osmótico, podendo aumentar o conteúdo de espécies reativas de oxigênio, induzindo o estresse oxidativo, o que resulta em alterações fisiológicas, como menor fotossíntese das plantas, ocasionando menor do crescimento (BITTSÁNSZKY et al., 2015; BORGOGNONE et al., 2013).

Em tomateiro, Nasraoui-Hajaji e Gouia (2014) observaram a inibição da atividade fotossintética com uma concentração de 5 mmol L⁻¹ de NH₄⁺. Para o girassol e o espinafre cultivados apenas com NH₄⁺, a taxa fotossintética foi menor em relação às plantas cultivadas apenas com NO₃⁻ (LASA et al., 2001).

Além disso, o excesso de amônio pode comprometer a fotossíntese de várias maneiras, como por exemplo a diminuição da parte área (BARRETO et al., 2016) e da arquitetura foliar das plantas (LOPES; ARAUS, 2006) com consequente aparecimento de cloroses e necroses (WONG, 2005; CAMPOS et al., 2016), podendo ocasionar a morte do vegetal.

No genótipo MT uma maior fotossíntese foi observada nas plantas supridas com N-NO₃⁻, enquanto no *dgt* foi observado no tratamento com a aplicação de AUX e na omissão de N (Figura 13a). A condutância estomática (Gs) e taxa de transpiração (E) foi menor no tratamento N-NH₄⁺ no MT (Figuras 13b e 13d). O tratamento com amônio promoveu maior fechamento dos estômatos das folhas de tomateiro, como forma de evitar o estresse amoniacal. Cruz et al. (2006) observaram que a maior concentração de proteínas das plantas de mandioca cultivadas exclusivamente com NH₄⁺ reforça a ideia de que a menor fotossíntese pode não ter

vido consequência do efeito desse íon sobre a concentração das enzimas relacionadas à fase bioquímica da fotossíntese, mas em função de sua menor condutância estomática. CLAUSSEN & LENZ (1999) reforçam a ideia de que a resposta fotossintética das plantas, quando supridas apenas com NH_4^+ , é dependente da espécie ou até mesmo de variedades diferentes. Como consequência da maior g_s , as plantas cultivadas sob NO_3^- e $\text{NO}_3^- + \text{AUX}$ tiveram maiores taxas de transpiração (E) (Figura 13d).

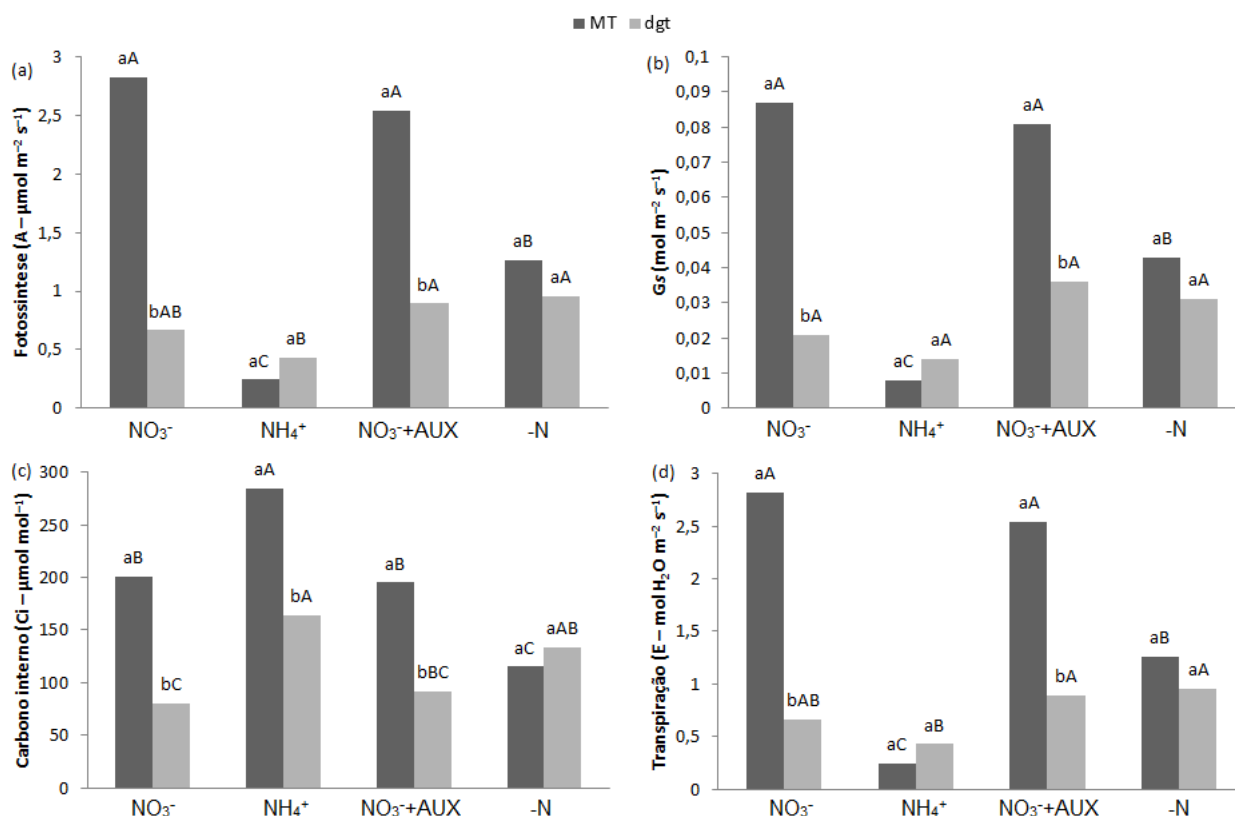


Figura 13. Fotossíntese líquida ($A - \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (a), carbono interno ($C_i - \mu\text{mol mol}^{-1}$) (b), condutância estomática ($G_s - \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (c) e transpiração ($E - \text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (d) de dois genótipos de tomateiro, MT e *dgt*, cultivados sob diferentes fontes de N e auxina exógena. Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas, diferem os tratamentos com N dentro dos genótipos MT e *dgt*; e minúsculas, diferem os genótipos dentro dos tratamentos com N, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Dessa forma, em altas concentrações de NH_4^+ pode comprometer a fotofosforilação, dissipar o gradiente de prótons necessário para o transporte de elétrons na fotossíntese e induzir desequilíbrio iônico e hormonal (Cruz et al., 2014). Ambos os genótipos avaliados promoveram incremento no CO_2 interno (C_i) nas

folhas de tomateiro com o uso de NH_4^+ com superioridade do *dgt* (Figura 13c). O incremento no Ci , quando utilizado amônio como fonte de N, pode indicar uma tentativa das plantas de tomateiro de escaparem desse estresse abiótico, pois o Ci é considerado uma variável fisiológica que indica respostas das plantas aos fatores estressantes. Nessas condições, é possível afirmar que o genótipo *dgt* foi mais eficiente quanto à tolerância ao efeito tóxico do amônio.

5. CONCLUSÕES

A AUX não sendo utilizada pelo tomateiro diminui o crescimento das raízes e da parte aérea das plantas. Entretanto, em condições de deficiência de N, o tomateiro *dgt* apresenta alterações no metabolismo do nitrogênio, com aumento do acúmulo de N e na produção de matéria seca, havendo maior eficiência de uso do nitrogênio.

O tomateiro *dgt* é mais tolerante à toxicidade de amônio, acumulando mais NH_4^+ nas raízes e assimilando-o na forma de proteínas solúveis.

As respostas inéditas no desenvolvimento do *dgt* em condições de deficiência de N podem estar relacionadas a uma maior atividade da GS na raiz e na parte aérea nessas condições.

6. REFERÊNCIAS

ABENAVOLI, M.R.; LONGO, C.; LUPINI, A.; MILLER, A. J.; ARANITI, F.; MERCATI, F.; PRINCI, M.P.; SUNSERI, F. Phenotyping two tomato genotypes with different nitrogen use efficiency. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux, v. 107, p. 21-32, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.04.021>>

ALBORESI, A.; GESTIN, C.; LEYDECKER, M. T.; BEDU, M.; MEYER, C.; TRUONG, H. N. Nitrate, a signal relieving seed dormancy in Arabidopsis. **Plant, cell and environment**, Oxford, v. 28, n. 4, p. 500-512, 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01292.x>

AVERY JR, G. S.; BURKHOLDER, P. R.; CREIGHTON, H. B. Nutrient deficiencies and growth hormone concentration in Helianthus and Nicotiana. **American Journal of Botany**, St. Louis, p. 553-557, 1937.

AVERY JR, G. S.; POTTORF, L. Auxin and nitrogen relationships in green plants. **American Journal of Botany**, St. Louis, p. 666-669, 1945.

BATES, T. R.; LYNCH, J. P. Root hairs confer a competitive advantage under low phosphorus availability. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 236, n. 2, p. 243-250, 2001.

BARRETO, R. F.; PRADO, R. M.; LEAL, A. J. F.; TROLEIS, M. J. B.; SILVA JUNIOR, G. B.; MONTEIRO, C. C.; SANTOS, L.C.N.; CARVALHO, R. F. Mitigation of ammonium toxicity by silicon in tomato depends on the ammonium concentration. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B—Soil & Plant Science**, Uppsala, v. 66, n. 6, p. 483-488, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/09064710.2016.1178324>>.

BATAGLIA, O. C.; FURLANI, A. M. C.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R.; GALLO, J. R. **Métodos de análise química de plantas**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 1983. 48 p. (Boletim Técnico, 78).

BERNARD, S.M.; HABASH, D.Z. The importance of cytosolic glutamine synthetase in nitrogen assimilation and recycling. **New Phytologist**, London, v. 182, n. 3, p. 608-620, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02823.x>>

BITTSÁNSZKY, A.; PILINSZK, K.; GYULAI, G.; KOMIVES, T. Over coming ammonium toxicity. **Plant Science**, Limerick, v. 231, n. 4, p.184-190, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.12.005>>.

BORGOGNONE, D.; COLLA, G.; ROUPHAEL, Y.; CARDARELLI, M.; REA, E.; SCHWARZ, D. Effect of nitrogen form and nutrient solution pH on growth and mineral composition of self-grafted and grafted tomatoes. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 149, n. 1, p. 61-69, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2012.02.012>>.

BOUGUYON, E.; BRUN, F.; MEYNARD, D.; KUBEŠ, M.; PERVENT, M.; LERAN, S.; HOYEROVÁ, K. Multiple mechanisms of nitrate sensing by Arabidopsis nitrate transceptor NRT1.1. **Nature plants**, London, v. 1, n. 3, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nplants.2015.15>>.

BRITTO, D.T.; GLASS, A.D.; KRONZUCKER, H.J.; SIDDIQI, M.Y. Cytosolic concentrations and transmembrane fluxes of $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$. An evaluation of recent proposals. **Plant Physiology**, New York, v. 125, n. 2, p. 523-526, 2001. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1104/pp.125.2.523>>.

BRITTO, D. T.; BALKOS, K. D.; BECKER, A.; COSKUN, D.; HUYNH, W. Q.; KRONZUCKER, H. J. Potassium and nitrogen poisoning: Physiological changes and biomass gains in rice and barley. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 94, p.1085-1089, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4141/CJPS2013-143>>.

CABA, J. M.; CENTENO, M. L.; FERNÁNDEZ, B.; GRESSHOFF, P. M.; LIGERO F. Inoculation and nitrate alter phytohormone levels in soybean roots: differences between a supernodulating mutant and the wild type. **Planta**, Heidelberg, v. 211, n. 1, p. 98-104, 2000. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s004250000265>>.

CAMPOS, C. N. S., DE MELLO PRADO, R., ROQUE, C. G., DE LIMA NETO, A. J., MARQUES, L. J. P., CHAVES, A. P.; CRUZ, C. A. Use of silicon in mitigating ammonium toxicity in maize plants. **American Journal of Plant Sciences**, Irvine, v. 6, n. 11, p. 1780, 2015.

CAMPOS, C. N. S., DE MELLO PRADO, R., CAIONE, G., DE LIMA NETO, A. J.; MINGOTTE, F. A. L. C. Silicon and excess ammonium and nitrate in cucumber plants. **African Journal of Agricultural Research**, Nairóbi, v. 11, n. 4, p. 276-283, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5897/AJAR2015.10221>>.

CARVALHO, R. F., CAMPOS, M. L., PINO, L. E., CRESTANA, S. L., ZSÖGÖN, A., LIMA, J. E.; PERES, L. E. Convergence of developmental mutants into a single tomato model system: 'Micro-Tom' as an effective toolkit for plant development research. **Plant Methods**, Nottingham, v. 7, n. 1, p. 1, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/1746-4811-7-18>>.

CASTRO-RODRÍGUEZ, V.; GARCÍA-GUTIÉRREZ, A.; CANALES, J.; AVILA, C.; KIRBY, E. G.; CÁNOVAS, F. M. The glutamine synthetase gene family in Populus. **BMC Plant Biology**, London, v. 11, n. 1, p. 1, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2229-11-119>>.

CHEN, J.G.; CHENG, S.H.; CAO, W.; ZHOU, X. Involvement of endogenous plant hormones in the effect of mixed nitrogen source on growth and tillering of wheat. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 21, n. 1, p. 87-97, 1998. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/01904169809365385>>.

CRUZ, C.; BIO, A. F. M.; DOMÍNGUEZ-VALDIVIA, M. D.; APARICIO-TEJO, P. M.; LAMSFUS, C.; MARTINS-LOUÇÃO, M. A. How does glutamine synthetase activity determine plant tolerance to ammonium? **Planta**, Heidelberg, v. 223, n. 5, p. 1068–1080, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00425-005-0155-2>>

CRUZ, C.; DOMÍNGUEZ-VALDIVIA, M. D.; APARICIO-TEJO, P. M.; LAMSFUS, C.; BIO, A.; MARTINS-LOUÇÃO, M. A.; MORAN, J. F. Intra-specific variation in pea responses to ammonium nutrition leads to different degrees of tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 70, n. 2-3, p. 233-243. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.09.014>>.

CRUZ, J. L.; ALVES, A. A. C.; LECAIN, D. R.; ELLIS, D. D.; MORGAN, J. A. Effect of elevated CO₂ concentration and nitrate: ammonium ratios on gas exchange and growth of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 374, n. 1-2, p. 33-43, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11104-013-1869-8>>.

DANIEL, S. G.; RAYLE, D. L.; CLELAND, R. E. Auxin physiology of the tomato mutant diageotropica. **Plant Physiology**, New York, v. 91, n. 3, p. 804-807, 1989. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1104/pp.91.3.804>>.

DUBROVSKY, J.G.; ROST, T.L.; COLÓN-CARMONA, A.; DOERNER, P. Early primordium morphogenesis during lateral root initiation in *Arabidopsis thaliana*. **Planta**, Heidelberg, v. 214, n. 1, p. 30-36, 2001. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s004250100598>>.

FAGERIA, N. K. Optimizing nutrient use efficiency in crop production. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 2, n. 1, p. 6-16, 1998. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v02n01p6-16>>.

FERRARO, G.; D'ANGELO, M.; SULPICE, R.; STITT, M.; VALLE, E.M. Reduced levels of NADH-dependent glutamate dehydrogenase decrease the glutamate content of ripe tomato fruit but have no effect on green fruit or leaves. **Journal of experimental botany**, Lancaster, v. 66, n. 11, p. 3381-3389, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jxb/erv150>>.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>>.

FORDE, B. G. Local and long-range signaling pathways regulating plant responses to nitrate. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 53, n. 1, p. 203-224, 2002. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.arplant.53.100301.135256>>.

FINDENEGG, G. R. A comparative study of ammonium toxicity at different constant pH of the nutrient solution. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 103, n. 2, p. 239-243, 1987. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/BF02370395>>

FLORES, R. A., BORGES, B. M. M. N., ALMEIDA, H., PRADO, R. D. M. Growth and Nutritional Disorders of Coffee Cultivated in Nutrient Solutions with Suppressed

Macronutrients. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 39, n. 11, p. 1578-1588, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/01904167.2016.1161777>>.

GARNETT, T.; CONN, V.; KAISER, B. N. Root based approaches to improving nitrogen use efficiency in plants. **Plant, cell and environment**, Oxford, v. 32, n. 9, p. 1272-1283, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.02011.x>>.

GOJON, A.; KROUK, G.; PERRINE-WALKER, F.; LAUGIER, E. Nitrate transceptor (s) in plants. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 62, n. 7, p. 2299-2308, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jxb/erq419>>.

GOOD, A. G.; SHRAWAT, A. K.; MUENCH, D. G. Can less yield more? Is reducing nutrient input into the environment compatible with maintaining crop production? **Trends in plant science**, London, v. 9, n. 12, p. 597-605, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2004.10.008>>.

GUIMARÃES, M. M. C.; CAIRO, P. A. R.; NEVES, O. S. C. Crescimento de *Eucalyptus urophylla* em meio hidropônico com diferentes proporções de nitrato e amônio. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 1, p. 52-61, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4322/floram.2014.011>>.

GUO, Y.; CHEN, F.; ZHANG, F.; MI, G. Auxin transport from shoot to root is involved in the response of lateral root growth to localized supply of nitrate in maize. **Plant Science**, Limerick, v. 169, n. 5, p. 894-900, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.06.007>>.

HELALI, S. M.; NEBLI, H.; KADDOUR, M.; MAHMOUDI, H.; LACHAÂL, M.; OUERGHI, A. Influence of nitrate-ammonium ratio on growth and nutrition of *Arabidopsis thaliana*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 336, n. 1-2, p. 65-74, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11104-010-0445-8>>.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants with out soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 1950. p. 347.

HORCHANI, F.; HAJRI, R.; ASCHI-SMITI, S. Effect of ammonium or nitrate nutrition on photosynthesis, growth, and nitrogen assimilation in tomato plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 173, n. 4, p. 610-617, 2010.

HORCHANI, F.; HAJRI, R.; ASCHI-SMITI, S. Is the sensitivity to ammonium nutrition related to nitrogen accumulation? **Current Botany**, Vidyanagar, v. 2, n. 1, p. 18-22, 2011.

HU, L.; YU, J.; LIAO, W.; ZHANG, G.; XIE, J.; LV, J.; XIAO, X.; YANG, B.; ZHOU, R.; BU, R. Moderate ammonium: nitrate alleviates low light intensity stress in mini Chinese cabbage seedling by regulating root architecture and photosynthesis. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 186, p. 143-153, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2015.02.020>>.

HUANG, L.; LU, Y.; GAO, X.; DU, G.; MA, X.; LIU, M.; GUO, J.; CHEN, Y. Ammonium-induced oxidative stress on plant growth and antioxidative response of duckweed (*Lemna minor* L.) **Ecological Engineering**, Amsterdam, v. 58, p. 355-362, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.06.031>>.

IVANCHENKO, M.G.; COFFEEN, W.C.; LOMAX, T.L.; DUBROVSKY, J.G. Mutations in the *diageotropica* (*dgt*) gene uncouple patterned cell division during lateral root initiation from proliferative cell division in the pericycle. **The Plant Journal**, Michigan, v. 46, n. 3, p. 436-447, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02702.x>>.

IVANCHENKO, M.G.; ZHU, J.; WANG, B.; MEDVECKÁ, E.; D.U. The cyclophilin A DIAGEOTROPICA gene affects auxin transport in both root and shoot to control lateral root formation. **Development**, Cambridge, v. 142, n. 4, p. 712-721, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1242/dev.113225>>.

JONES, A. M., IM, K. H., SAVKA, M. A., WU, M. J., DEWITT, N. G., SHILLITO, R., BINNS, A. N. Auxin-dependent cell expansion mediated by overexpressed auxin-binding protein 1. **Science**, Whashington, v. 282, n. 5391, p. 1114-1117, 1998. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1126/science.282.5391.1114>>.

JAMPEETONG, A.; BRIX, H.; KANTAWANICHKUL, S. Effects of inorganic nitrogen forms on growth, morphology, nitrogen uptake capacity and nutrient allocation of four tropical aquatic macrophytes (*Salvinia cucullata*, *Ipomoea aquatica*, *Cyperus involucratus* and *Vetiveria zizanioides*). **Aquatic Botany**, Amsterdam, v. 97, n. 1, p. 10-16, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aquabot.2011.10.004>>.

KOCHANOVÁ, Z.; JAŠKOVÁ, K.; SEDLÁKOVÁ, B.; LUXOVÁ, M. Silicon improves salinity tolerance and affects ammonia assimilation in maize roots. **Biologia**, v. 69, n.9, p. 1164-1171, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2478/s11756-014-0411-7>>.

KOOHKAN, H.; MAFTOUN, M. Effect of Nitrogen–Boron Interaction on Plant Growth and Tissue Nutrient Concentration of Canola (*Brassica napus* L.). **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 39, n. 7, p. 922-931, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/01904167.2016.1143492>>.

KROUK, G.; LACOMBE, B.; BIELACH, A.; PERRINE-WALKER F, MALINSKA K. Nitrate-regulated auxin transport by NRT1. 1 defines a mechanism for nutrient sensing in plants. **Developmental cell**, Cambridge, v. 18, n. 6, p. 927-937, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.devcel.2010.05.008>>.

KROUK, G. Hormones and nitrate: a two-way connection. **Plant molecular biology**, Zurich, v. 91, n. 6, p. 599-606, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11103-016-0463-x>>.

LAVY, M.; PRIGGE, M.J.; TIGYI, K.; ESTELLE, M. The cyclophilin DIAGEOTROPICA has a conserved role in auxin signaling. **Development**, Cambridge, v. 139, n. 6, p. 1115-1124, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1242/dev.074831>>.

LÉRAN, S.; EDEL, K. H.; PERVENT, M.; HASHIMOTO, K.; CORRATGÉ-FAILLIE, C.; OFFENBORN, J. N.; LACOMBE, B. Nitrate sensing and uptake in Arabidopsis are enhanced by ABI2, a phosphatase inactivated by the stress hormone abscisic acid. **Scientia Signal**, v. 8, n. 43, p. 10.1126, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1126/scisignal.aaa4829>>.

LANQUAR, V.; LOQUE, D.; HORMANN, F.; YUAN, L. X.; BOHNER, A.; ENGELSBERGER, W. R.; LALONDE, S.; SCHULZE, W. X.; VON, WIREN, N.; FROMMER, W. B. Feedback inhibition of ammonium uptake by a phospho-dependent allosteric mechanism in Arabidopsis. **The Plant Cell**, Rockville, v. 21, n. 11, p. 3610-3622, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1105/tpc.109.068593>>.

LASA, B.; FRECHILLA, S.; LAMSFUS, C.; APARICIO-TEJO, P. M. The sensitivity to ammonium nutrition is related to nitrogen accumulation. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 91, n. 1-2, p. 143-152, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4238\(01\)00239-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4238(01)00239-4)>.

LASA, B.; FRECHILLA, S.; APARICIO-TEJO, P.M.; LAMSFUS, C. Role of glutamate dehydrogenase and phosphoenolpyruvate carboxylase activity in ammonium nutrition tolerance in roots. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux, v. 40, n. 11, p. 969-976, 2002. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0981-9428\(02\)01451-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0981-9428(02)01451-1)>.

LI, Q.; LI, B.H.; KRONZUCKER, H.J.; SHI, W.M. Root growth inhibition by NH_4^+ in Arabidopsis is mediated by the root tip and is linked to NH_4^+ efflux and GMPase activity. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 33, n. 9, p. 1529-1542, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02162.x>>.

LI, B.; LI, Q.; SU, Y.; CHEN, H. XIONG, L. MI, G. KRONZUCKER, H.J.; SHI, W. Shoot-supplied ammonium targets the root auxin influx carrier AUX1 and inhibits lateral root emergence in Arabidopsis. **Plant, cell and environment**, Oxford, v. 34, n. 6, p. 933-946, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02295.x>>.

LI, B.; LI, Q.; XIONG, L.; KRONZUCKER, H.J.; KRAMER, U.; SHI, W. Arabidopsis plastid AMOS1/EGY1 integrates abscisic acid signaling to regulate global gene expression response to ammonium stress. **Plant Physiology**, New York, v. 160, n. 4, p. 2040-2051, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1104/pp.112.206508>>.

LI, G.; LI, B.; DONG, G.; FENG, X.; KRONZUCKER, H.J.; SHI, W. Ammonium-induced shoot ethylene production is associated with the inhibition of lateral root formation in Arabidopsis. **Journal of experimental botany**, Lancaster, v. 64, n. 5, p. 1413-1425, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/jxb/ert019>>.

LI, B.; LI, G.; KRONZUCKER, H.J.; BALUSKA, F.; SHI, W. Ammonium stress in Arabidopsis: signaling, genetic loci, and physiological targets. **Trends in Plant Science**, London, v. 19, n. 2, p. 107-114, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2013.09.004>>.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in enzymology**, v. 148, p. 350-382, 1987. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)>.

LIU, J., AN, X., CHENG, L., CHEN, F., BAO, J., YUAN, L.; MI, G. Auxin transport in maize roots in response to localized nitrate supply. **Annals of botany**, Leicester, v. 106, n. 6, p. 1019-1026, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/aob/mcq202>>.

LIU, Y.; LAI, N.; GAO, K.; CHEN, F.; YUAN, L.; MI, G. Ammonium inhibits primary root growth by reducing the length of meristem and elongation zone and decreasing elemental expansion rate in the root apex in Arabidopsis thaliana. **PLoS One**, San Francisco, v. 8, n. 4, p. e.61031, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0061031>>.

MA, W.; LI, J.; QU, B.; HE, X.; ZHAO, X.; LI, B.; TONG, Y. Auxin biosynthetic gene TAR2 is involved in low nitrogen-mediated reprogramming of root architecture in Arabidopsis. **The Plant Journal**, Michigan, v. 78, n. 1, p. 70-79, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/tpj.12448>>.

MCALLISTER, C. H.; BEATTY, P. H.; GOOD, A. G. Engineering nitrogen use efficient crop plants: the current status. **Plant Biotechnology Journal**, Oxford, v. 10, n. 9, p. 1011-1025, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1467-7652.2012.00700.x>>

MARÍN, I. C.; LOEF, I.; BARTETZKO, L.; SEARLE, I.; COUPLAND, G.; STITT, M.; OSUNA, D. Nitrate regulates floral induction in Arabidopsis, acting independently of light, gibberellin and autonomous pathways. **Planta**, Heidelberg, v. 233, n. 3, p. 539-552, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00425-010-1316-5>>

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 3. ed. Oxford: Elsevier, 2012. 643 p.

MARTÍNEZ-ANDÚJAR, C. GHANEM, M. E.; ALBACETE, A.; PÉREZ-ALFOCEA, F. Response to nitrate/ammonium nutrition of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants overexpressing a prokaryotic NH₄⁺-dependent asparagine synthetase. **Journal of plant physiology**, Toronto, v. 170, n. 7, p. 676-687, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2012.12.011>>.

MASCLAUX-DAUBRESSE, C.; DANIEL-VEDELE, F.; DECHORGNAT, J.; CHARDON, F.; GAUFICHON, L.; SUZUKI, A. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. **Annals of botany**, Leicester, v. 105, n. 7, p. 1141-1157, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/aob/mcq028>>.

MENDOZA-VILLARREAL, R.; VALDEZ-AGUILAR, L. A.; SANDOVAL-RANGEL, A.; ROBLEDO-TORRES, V.; BENAVIDES-MENDOZA, A. Tolerance of lisianthus to high ammonium levels in rockwool culture. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 38, n. 1, p. 73-82, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/01904167.2014.920379>>.

MUDAY, G. K.; LOMAX, T. L.; RAYLE, D. L. Characterization of the growth and auxin physiology of roots of the tomato mutant, diageotropica. **Planta**, Heidelberg, v. 195, n. 4, p. 548-553, 1995. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/BF00195714>>

MUÑOZ-HUERTA, R. F.; GUEVARA-GONZALEZ, R. G.; CONTRERAS-MEDINA, L. M.; TORRES-PACHECO, I.; PRADO-OLIVAREZ, J.; OCAMPO-VELAZQUEZ, R. V. A review of methods for sensing the nitrogen status in plants: advantages, disadvantages and recent advances. **Sensors**, Basel, v. 13, n. 8, p. 10823-10843, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/s130810823>>

NOGUEIROL, R. C.; MONTEIRO, F. A.; GRATÃO, P. L.; DA SILVA, B. K. D. A.; AZEVEDO, R. A. Cadmium Application in Tomato: Nutritional Imbalance and Oxidative Stress. **Water, Air, and Soil Pollution**, Guelph, v. 227, n. 6, p. 1-20, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11270-016-2895-y>>.

OH, K.; IVANCHENKO, M.G.; WHITE, T.J.; LOMAX, T.L. The diageotropica gene of tomato encodes a cyclophilin: a novel player in auxin signaling. **Planta**, Heidelberg, v. 224, n. 1, p. 133-144, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00425-005-0202-z>>.

O'NEAL, D.; JOY, K. W. Glutamine synthetase of pea leaves. **Plant Physiology**, New York, v. 54, p. 773-779, 1974.

PRADO, R. M. **Nutrição de plantas**. Editora Unesp, 2008.

RAHAYU, Y. S.; WALCH-LIU, P.; NEUMANN, G.; RÖMHELD, V.; VON WIRÉN, N.; BANGERTH, F. Root-derived cytokinins as long-distance signals for NO₃⁻-induced stimulation of leaf growth. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 56, n. 414, p. 1143-1152, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jxb/eri107>>.

REMANS, T.; NACRY, P.; PERVENT, M.; FILLEUR, S.; DIATLOFF, E.; MOUNIER, E.; GOJON, A. The Arabidopsis NRT1.1 transporter participates in the signaling pathway triggering root colonization of nitrate-rich patches. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 103, n. 50, p. 19206-19211, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1073/pnas.0605275103>>.

ROOSTA, H. R.; SCHJOERRING, J. K. Effects of ammonium toxicity on nitrogen metabolism and elemental profile of cucumber plants. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 30, n. 11, p. 1933-1951, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/01904160701629211>>.

ROOSTA, H. R.; SCHJOERRING, Jan K. Root carbon enrichment alleviates ammonium toxicity in cucumber plants. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 31, n. 5, p. 941-958, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/01904160802043270>>.

SAINI, S.; SHARMA, I.; KAUR, N.; PATI, P. K. Auxin: a master regulator in plant root development. **Plant cell reports**, Knoxville, v. 32, n. 6, p. 741-757, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00299-013-1430-5>>.

SCHEIBLE, W.R.; MORCUENDE, R.; CZECHOWSKI, T.; FRITZ, C.; OSUNA, D.; PALACIOS-ROJAS, N. Genome-wide reprogramming of primary and secondary metabolism, protein synthesis, cellular growth processes, and the regulatory infrastructure of *Arabidopsis* in response to nitrogen. **Plant physiology**, New York, v. 136, n. 1, p. 2483-2499, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1104/pp.104.047019>>.

SOUZA, M. R. M.; PEREIRA, P. R. G., SEDIYAMA, M. A. N., VIDIGAL, S. M., MILAGRES, C. S. F., BARACAT-PEREIRA, M. C. Mineral, protein and nitrate contents in leaves of *Pereskia aculeata* subjected to nitrogen fertilization. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 46, n. 1, p. 43-50, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1983-40632016v4637959>>.

SU, S.; ZHOU, Y.; QIN, J.G.; WANG, W.; YAO, W.; SONG, L. Physiological responses of *Egeria densa* to high ammonium concentration and nitrogen deficiency. **Chemosphere**, Amsterdam, v. 86, n. 5, p. 538-545, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.10.036>>.

TAMAKI, V.; MERCIER, H. Cytokinins and auxin communicate nitrogen availability as long-distance signal molecules in pineapple (*Ananas comosus*). **Journal of plant physiology**, Toronto, v. 164, n. 11, p. 1543-1547, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2007.01.010>>.

THOMSEN, H.C.; ERIKSSON, D.; MOLLER, I.S.; SCHJOERRING, J.K. Cytosolic glutamine synthetase: a target for improvement of crop nitrogen use efficiency?. **Trends in Plant Science**, London, v. 19, n. 10, p. 656-663, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2014.06.002>>.

TIAN, Q.; CHEN, F.; LIU, J.; ZHANG, F.; MI, G. Inhibition of maize root growth by high nitrate supply is correlated with reduced IAA levels in roots. **Journal of plant physiology**, Toronto, v. 165, n. 9, p. 942-951, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2007.02.011>>.

YANG, H.; VON DER FECHT-BARTENBACH, J.; LOHMANN, J. U.; NEUHÄUSER, B.; LUDEWIG, U. Auxin-modulated root growth inhibition in *Arabidopsis thaliana* seedlings with ammonium as the sole nitrogen source. **Functional Plant Biology**, Tasmania, v. 42, n. 3, p. 239-251, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1071/FP14171>>.

YONG, J.W.H.; NG, Y.F.; TAN, S.N.; CHEW, A.Y.L. Effect of fertilizer application on photosynthesis and oil yield of *Jatropha curcas* L. **Photosynthetica**, Praha, v. 48, n. 2, p. 208-218, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11099-010-0026-3>>.

VACULÍKOVÁ, M.; VACULÍK, M.; SIMKOVÁ, L.; FIALOVÁ, I.; KOCHANOVÁ, Z.; SEDLÁKOVÁ, B.; LUXOVÁ, M. Influence of silicon on maize roots exposed to antimony e grow than dantioxidative response. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux, v. 83, p. 279-284, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.08.014>>.

VIDAL, E. A.; MOYANO, T. C.; CANALES, J.; GUTIÉRREZ, R. A. Nitrogen control of developmental phase transitions in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of experimental botany**, Lancaster, v. 65, n. 19, p. 5611-5618, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jxb/eru326>>.

WALCH-LIU, P.; IVANOV, I. I.; FILLEUR, S.; GAN, Y.; REMANS, T., & FORDE, B. G. Nitrogen regulation of root branching. **Annals of botany**, Leicester, v. 97, n. 5, p. 875-881, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/aob/mcj601>>.

WANG, C.; SONG, H. Z.; PEI F. W.; WEI, L.; JIE, L. Effects of ammonium on the anti oxidative response in *Hydrilla Verticillata* (L.f.) royle plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Maryland Heights, v. 73, n. 2, p. 189-195, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.08.012>>.

WONG, M. Visual symptoms of plant nutrient deficiencies in nursery and landscape plants. **Soil and Crop Management**, Quebec, v. 1, n. 1, p. 1-4, 2005. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10125/12471>>.

XU, G.; FAN, X.; MILLER, A.J. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. **Annual review of plant biology**, Palo Alto, v. 63, p. 153-182, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105532>>.

ZANIN, R. L.; ZAMBONI, A.; MONTE, R. TOMASI, N. VARANINI, Z.; CESCO, S.; PINTON, R. Transcriptomic analysis highlights reciprocal interactions of urea and nitrate for nitrogen acquisition by maize. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 56, n. 3, p. 532-548, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/pcp/pcu202>>.

ZHAO, Y. Auxin biosynthesis: a simple two-step pathway converts tryptophan to indole-3-acetic acid in plants. **Molecular plant**, Shanghai, v. 5, n. 2, p. 334-338, 2012. . Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/mp/ssr104>>.

ZHU, J.; HUI, F.; LI, M.;, MA, Y.; YU, H.; JIANG, W. Effect of different nitrogen concentrations on roots architecture and nitrogen use efficiency in potting tomato seedling. **Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering**, v. 31, n. 23, p. 131-137, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.11975/j.issn.1002-6819.2015.23.017>>.

APÊNDICES



Apêndice A1. Experimento em câmara de crescimento sob cultivo hidropônico aerado. Unesp - Jaboticabal/SP.



Apêndice A2. Bandeja de produção de mudas e sistema de aeração do experimento em câmara de crescimento sob cultivo hidropônico aerado. Unesp - Jaboticabal/SP.



Apêndice A3. Experimento em câmara de crescimento sob cultivo hidropônico aerado. UPNA - Pamplona/Espanha.