

Procedimentos para avaliação de parâmetros cinéticos na absorção de nutrientes em videiras



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Uva e Vinho
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

DOCUMENTOS 131

Procedimentos para avaliação de parâmetros cinéticos na absorção de nutrientes em videiras

*Gustavo Brunetto
Betania Vahl de Paula
Amanda Veridiana Krug
Adriele Tassinari
Carina Marchezan
Matheus Severo de Souza Kulman
Edicarla Trentin
Lincon Oliveira Stefanello
Anderson Cesar Ramos Marques
Eduardo Maciel Haitzmann dos Santos
Danilo Eduardo Rozane
João Kaminski
Henrique Pessoa dos Santos
George Wellington Bastos de Melo*

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Uva e Vinho
Rua Livramento, 515 - Caixa Postal 130
95701-008 Bento Gonçalves, RS

Fone: (0xx) 54 3455-8000
Fax: (0xx) 54 3451-2792
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Uva e Vinho

Presidente
João Caetano Fioravanço

Secretário-Executivo
Edgardo Aquiles Prado Perez

Membros
*Fernando José Hawerth, Jorge Tonietto, Klecius Ellera Gomes, Renata Gava,
Rochelle Martins Alvorcem, Silvana Buriol, Thor Vinícius Martins Fajardo*

Supervisão editorial
Klecius Ellera Gomes

Revisão de texto
*Edgardo Aquiles Prado Perez
Renata Gava*

Normalização bibliográfica
Rochelle Martins Alvorcem CRB10/1810

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Cristiane Turchet

Imagem da capa
Adriele Tassinari

1ª edição
Publicação digitalizada (2022)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Uva e Vinho

Procedimentos para avaliação de parâmetros cinéticos na absorção de nutrientes em videiras. / por Gustavo Brunetto... [et al.]. – Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2022.
18 p. : il. color. -- (Embrapa Uva e Vinho. Documentos online, 131).

Autores: Gustavo Brunetto, Betania Vahl de Paula, Amanda Veridiana Krug, Adriele Tassinari, Carina Marchezan, Matheus Severo de Souza Kulmann, Edicarla Trentin, Lincon Oliveira Stefanello, Anderson Cesar Ramos Marques, Eduardo Maciel Haitzmann dos Santos, Danilo Eduardo Rozane, João Kaminski, Henrique Pessoa dos Santos, George Wellington Bastos de Melo.

ISSN 1808-4648

1. Adubação. 2. Eficiência nutricional. 3. Variabilidade genética. 4. Videira. 5. Parâmetros cinéticos. I. Brunetto, Gustavo. II. Embrapa Uva e Vinho. III. Série.

CDD 631.81 (21. ed.)

© Embrapa, 2022

Autores

Gustavo Brunetto

Engenheiro-agrônomo, doutor em Ciência do Solo, professor do Departamento de Solos e do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, e Professor do Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

Betania Vahl de Paula

Bióloga, doutora em Ciência do Solo, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

Amanda Veridiana Krug

Engenheira-agrônoma, estudante de mestrado na Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

Adriele Tassinari

Engenheira-agrônoma, estudante de doutorado na Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

Matheus Severo de Souza Kulmann

Engenheiro florestal, estudante de doutorado na Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

Carina Marchezan

Engenheira-agrônoma, estudante de doutorado na Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

Edicarla Trentin

Engenheira-agrônoma, doutora em Ciência do Solo, bolsista (pós-doutorado) na Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

Lincon Oliveira Stefanello

Engenheiro-agrônomo, estudante de doutorado na Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

Anderson Cesar Ramos Marques

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, Professor da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI) - Campus Frederico Westphalen, Frederico Westphalen (RS).

Eduardo Maciel Haitzmann dos Santos

Engenheiro-agrônomo, estudante de doutorado na Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

Danilo Eduardo Rozane

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, professor do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR; e professor da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Registro, SP.

João Kaminski

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, professor aposentado do Departamento de Solos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

Henrique Pessoa dos Santos

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fisiologia Vegetal, Pesquisador da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS.

George Wellington Bastos de Melo

Engenheiro agrônomo, doutor em Ciência do Solo, Pesquisador da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS.

Apresentação

A maioria dos solos não fornece a quantidade de nutrientes necessária para suprir a demanda das plantas, entre elas, as videiras. Quando isso acontece é necessário realizar adubações. Porém, espécies e variedades cultivadas podem possuir baixa eficiência na absorção de nutrientes, o que pode prejudicar o crescimento, produtividade e até a qualidade dos alimentos. Aliado a isso, parte do nutriente aplicado via adubações pode permanecer no solo, potencializando as perdas de nutrientes, o que não é desejado.

Assim, torna-se necessário criar metodologias e procedimentos viáveis para contribuir na seleção de espécies e variedades mais eficientes na absorção de nutrientes, especialmente, das formas de nutrientes mais móveis em solos, como o nitrato ou mesmo de outras formas de outros nutrientes. Além disso, é necessária a existência de programas computacionais adequados para estimar os parâmetros cinéticos de captação de nutrientes, como a velocidade máxima de absorção, a constante de Michaelis-Mentene, a concentração mínima e o influxo.

A análise conjunta desses parâmetros cinéticos permite definir quais as espécies ou variedades possuem potencial para se adaptarem aos solos com baixa fertilidade natural, ou mesmo, que podem receber menores doses de nutrientes. Isso possibilita racionalizar o uso de fontes de nutrientes em adubações, o que pode também diminuir o custo de produção de cultivos, como o de videiras.

O presente documento apresenta este inovador procedimento para estimar os parâmetros cinéticos relacionados à absorção de nutrientes em videiras ainda no estágio de mudas, o que certamente, além do relatado, também poderá contribuir para os programas de melhoramento genético da cultura.

Adeliano Cargnin
Chefe-Geral da Embrapa Uva e Vinho

Sumário

Introdução.....	8
Tópicos e recomendações para a análise cinética de nutrientes em videira	9
Escolha e preparo das plantas.....	9
Itens e soluções que devem ser providenciados	9
Instalação de um ensaio	12
Sistema de aeração usado na metodologia.....	13
Análises de nutrientes no tecido e na solução	14
Cálculos e análises estatísticas	15
Referências	16

Introdução

Um dos propósitos da agricultura é aumentar a quantidade de alimentos a ser disponibilizada para atender o consumo e o crescimento constante da população mundial. Na busca por este objetivo, uma frente de ação é a expansão da agricultura para novas áreas, o que impacta negativamente o meio ambiente. Em contrapartida, a mais importante e necessária frente é a busca por uma produção maior na mesma área, por meio da elevação da eficiência dos cultivos (Godfray et al., 2010).

Dentre as estratégias para elevar a eficiência de produção, destaca-se o aumento na capacidade de utilização de nutrientes pelas plantas cultivadas (Cordell et al., 2009; Ryan et al., 2012), o que pode ser estimado pelos parâmetros cinéticos associados à absorção de nutrientes. Eles são mais conhecidos em culturas anuais (Aziz et al., 2017; Griffiths; York, 2020), mas ainda pouco estimados em frutíferas, como a videira.

Os parâmetros cinéticos de absorção de nutrientes são representados pela velocidade máxima de absorção (V_{max}), que significa a quantidade de nutriente absorvida quando todos os transportadores específicos na membrana celular da raiz estão saturados. Mas também, pela constante de Michaelis-Menten (K_m), que indica a concentração de nutriente presente na solução, quando metade da velocidade máxima de absorção é atingida. Também representa a afinidade do íon com os sítios de absorção. Além disso, temos a concentração mínima (C_{min}), que corresponde à mais baixa concentração de um nutriente da solução do solo, que as raízes ainda podem absorver (Michaelis; Menten, 1913; Claassen; Barber, 1974). Além destes, considera-se também o influxo líquido (IL), que representa a quantidade de nutriente que é absorvida por unidade de massa ou pela superfície das raízes em uma unidade de tempo (Yang et al., 2007; Martinez et al., 2015).

Na análise conjunta desses parâmetros, as cultivares que apresentarem C_{min} e K_m baixos e V_{max} e IL altos, possuem maior potencial de adaptação aos solos com baixa fertilidade natural, ou mesmo, podem receber menores doses de nutrientes. As aplicações ajustadas e reduzidas de nutrientes favorecem a eficiência no manejo nutricional, reduzindo diretamente o custo da adubação e os riscos de contaminação de solos e águas (Scariotto et al., 2013; Rashmi et al., 2020).

Os programas de melhoramento genético de espécies frutíferas, como videiras, selecionam cultivares considerando características de interesse, tais como parâmetros de produção, de qualidade da uva e do mosto, de compatibilidade com porta-enxertos, de facilidade na propagação, de vigor, de desenvolvimento, de resistência as doenças, de longevidade da planta e de adaptação às condições climáticas adversas (Mota et al., 2017; Teissedre, 2018; Dalbó; Souza, 2019; Marcon Filho et al., 2019; Zanghelini et al., 2019; Schrader et al., 2020). Mas, em geral, os parâmetros relacionados à absorção de nutrientes, que podem determinar a eficiência de absorção em diferentes espécies e suas cultivares, não são considerados.

Os parâmetros cinéticos são determinados com maior frequência em culturas anuais adotando a metodologia proposta por Claassen e Barber (1974). Nessa metodologia, as plantas são cultivadas em recipientes com solução nutritiva a 50% de sua força iônica ao longo de, aproximadamente, 15 dias e, a partir daí, as plantas são acondicionadas em recipientes com água destilada por 24 horas para reduzir as reservas internas de nutrientes. Completado o período, a planta é transferida para outro recipiente com solução nutritiva a 100% de força iônica e, periodicamente, uma amostra da solução é coletada. As plantas são retiradas dessas condições, sendo medidos os parâmetros morfológicos e preparadas as amostras para análise dos nutrientes de interesse.

Contudo, quando se utiliza a metodologia proposta às plantas anuais em espécies perenes, como em videiras, os resultados são inconsistentes. Isso porque, as raízes, caules e ramos dessas plantas possuem maiores quantidades de reservas internas de nutrientes (Jordan et al., 2014; Melo et al., 2016; Paula et al., 2018; Sete et al., 2020). Essas reservas internas interferem diretamente nos resultados, exigindo, portanto, uma adequação dessa metodologia às culturas perenes.

Diante do exposto, essa publicação visa expor e detalhar um conjunto de procedimentos que constituem a adequação da metodologia a ser empregada em ensaios experimentais para a avaliação de parâmetros cinéticos relacionados à absorção de nutrientes em videiras.

Tópicos e recomendações para a análise cinética de nutrientes em videira

Escolha e preparo das plantas

Para a condução adequada da metodologia, devem ser usadas mudas clonais de videiras do mesmo genótipo e com similaridade em altura. As plantas também não podem expor nenhuma deficiência visual de nutrientes.

Visando respeitar o ciclo natural da cultura no Sul do Brasil, os ensaios experimentais devem ser conduzidos preferencialmente no período de novembro a março. Além disso, o substrato que estava presente nas raízes durante o preparo prévio das mudas, deve ser retirado com lavagem em água corrente, seguido de água destilada, para evitar qualquer influência sobre os resultados.

Itens e soluções que devem ser providenciados

Antes de iniciar qualquer etapa da metodologia é importante que sejam previamente organizados todos os materiais que serão necessários para a condução do ensaio. Para auxiliar nessa organização e evitar alguma pendência durante o processo, recomenda-se que sejam providenciados com antecedência todos os itens da lista abaixo:

- Bancada em casa de vegetação com temperatura e umidade controlada;
- Recipientes, como baldes plásticos, com capacidade de armazenamento de cinco litros de solução (a quantidade de solução é determinada de acordo com o tamanho da planta), preferencialmente escuros para evitar a passagem de luz;
- Compressores de ar de aquário;
- Equipos e agulhas de soro (encontrados em farmácias ou lojas de equipamentos médicos);
- Mangueira de silicone (adquirido na loja especializadas para aquários);
- Isopor de 5 cm de espessura;
- Espuma nova (adquirida em estofaria);
- Seringas de 10 ou 50 mL para coleta (uma para cada vaso);
- Mangueira flexível confeccionada com PVC transparente (1/8 de polegada X 1,5 mm) para inserção na ponta das seringas, para coletas da solução (ideal uma para cada vaso, comprimento de cada uma que “alcance” a solução até o último horário de coleta);

- Tubos falcon para armazenamento das alíquotas de solução coletadas em cada recipiente, capacidade de acordo com a quantidade de solução coletada;
- Caixa de isopor, com gelo, para armazenagem das amostras de solução;
- Sacos plásticos com capacidade de 5 kg para armazenamento das amostras coletadas;
- Sacos de papel para o armazenamento de órgãos das plantas;
- Paquímetro para mensuração do diâmetro de caule;
- Fita métrica para a mensuração da altura das plantas;
- Balança digital para a pesagem da matéria fresca e seca;
- Béquer de plástico para acondicionamento das plantas para determinação de matéria fresca e seca;
- pHmetro para monitorar o pH da solução (mantendo entre 5,5 e 6,0) ao longo do experimento.
- Soluções tampões de calibração de pH (4,0 e 7,0);
- Aparelho de osmose reversa, para obtenção de água “destilada” que será usada em todo experimento;
- Freezer para armazenamento das amostras de solução (especialmente se for para as análises de formas de N, como nitrato e amônio);
- Estufa de circulação de ar forçado para secagem dos órgãos das plantas;
- Moinho de facas para a moagem do tecido vegetal;
- Equipamentos adequados para o preparo de amostras em análises de nutrientes na solução ou tecido das plantas.

Além dos itens acima, é imprescindível que sejam providenciadas preliminarmente todas as soluções que serão utilizadas para a condução da avaliação. Abaixo estão citadas e descritas estas soluções, destacando-se os cuidados que devem ser tomados durante o preparo:

- **Solução de sulfato de cálcio (CaSO_4).** Esta solução será empregada na “Etapa 2” (descrita no item “Instalação do ensaio”) e deverá estar na concentração de $0,03 \text{ mol.L}^{-1}$. No preparo dessa solução, deve-se diluir a quantidade de 172,17 g de $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em água destilada na quantidade de litros necessários (podendo ser diluída por vaso ou em recipiente que comporte a solução para todos os vasos). Para fazer o cálculo da quantidade a ser pesada do reagente, visando a concentração de $0,03 \text{ mol.L}^{-1}$, utiliza-se um cálculo de regra de três, conforme o exemplo abaixo:

1 mol PM 172,17 g de $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

0,03 mol X

X= 5,16 g para 1 L de solução

5,16g1 L

X (Volume, em L, para todos os vasos)

Diluir a quantidade no volume necessário de água destilada. O sulfato de cálcio não é facilmente diluído em água destilada. Assim, deve ser agitado na água destilada usando bastão de vidro até a sua completa dissolução.

- **Soluções estoques de nutrientes.** As soluções estoques de nutrientes serão empregadas no preparo da solução nutritiva de Hoagland. Cada solução estoque deve ser preparada individualmente, pesando-se os reagentes que são fonte de cada elemento. Logo após as pesagens, os reagentes devem ser dissolvidos em água destilada, obtendo-se cada solução estoque individual, de acordo com as quantidades mostradas na Tabela 1. Nesse preparo, emprega-se um béquer de 1 L de capacidade, adicionando-se inicialmente em torno de 700 mL de água destilada para cada solução e, logo depois de dissolver, completar o volume até 1 L.

Para guardar as soluções estoques devem ser utilizados frascos do tipo âmbar, com capacidade de 1 L. Estas soluções devem ser armazenadas em geladeira (3 a 8 °C).

Tabela 1. Concentrações e quantidades de reagentes químicos a serem pesados para a obtenção das soluções estoques e alíquotas a serem retiradas para obtenção da solução de Hoagland a 100% e 50% da força iônica.

Nº da solução estoque	Reagente	Concentração	Pesar para 1 L de solução estoque (g)	Para 100% da concentração da solução retirar por L	Para 50% da concentração da solução retirar por L
1	NH ₄ H ₂ PO ₄	1 mol L ⁻¹	115,03	1 mL	0,5 mL
2	KNO ₃	1 mol L ⁻¹	101,11	6 mL	3 mL
3	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	1 mol L ⁻¹	236,16	4 mL	2 mL
4	MgSO ₄ .7H ₂ O	1 mol L ⁻¹	246,47	2 mL	1 mL
5	H ₃ BO ₃	0,5 ppm	2,86	1 mL	0,5 mL
	MnCl ₂ .4H ₂ O	0,5 ppm	1,8		
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,05 ppm	0,22		
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,02 ppm	0,08		
	H ₂ MoO ₄ .H ₂ O	0,01 ppm	0,02		
6 ⁽¹⁾	NiSO ₄ .7 H ₂ O	0,01 ppm	0,047	1 mL	0,5 mL
	FeSO ₄ .7H ₂ O	1 mol L ⁻¹	3,469		
	EDTA		4,639		

⁽¹⁾ Na preparação do Fe-EDTA deve-se ter cuidado para pesar e diluir individualmente os dois reagentes. Depois que os dois reagentes estejam dissolvidos, completar o volume da solução para 1 L. Adicionar a solução em frasco âmbar e autoclavar por 20 minutos. Como o Fe é foto reativo, deve-se cobrir o frasco com papel de alumínio. Deixar esfriar a solução e armazenar na geladeira.

- **Solução nutritiva de Hoagland.** A solução nutritiva proposta por Hoagland (empregada na Etapa 3), possui (em 100% de força iônica) (mg.L⁻¹): N-NO₃⁻ = 196, N-NH₄⁺ = 14, P = 31, K = 234, Ca = 160, Mg = 48,6, S = 70, Fe-EDTA = 5, Cu = 0,02, Zn = 0,15, Mn = 0,5, B = 0,5 e Mo = 0,01. Diariamente, o pH da solução de cada vaso precisará ser ajustado para ficar entre 5,5 e 6,0 (para que todos os nutrientes estejam disponíveis às plantas) e, quando necessário, adicionar gotas de ácido clorídrico (HCl) 1 mol.L⁻¹ (para deixar a solução mais ácida) ou hidróxido de sódio (NaOH) 1 mol.L⁻¹ (para deixar a solução mais básica).

No preparo da solução nutritiva que será empregada no ensaio é preciso determinar qual o percentual das soluções estoques que será utilizado (Tabela 1) e, assim, usar os mililitros equivalentes. Esse percentual pode ser de 25%, 50%, 75% ou 100% da força iônica. No caso da videira, os ensaios foram mais adequados com 50% de força iônica. A partir dessa definição, calcula-se a quantidade total de todas as soluções que serão necessárias para todos os vasos. Para exemplificar essa operação, vamos considerar o cálculo para abastecer 55 recipientes com capacidade de 5 L de solução nutritiva Hoagland a 50%. Neste caso, as quantidades que devem ser consideradas de cada solução estoque estão listadas na Tabela 2.

Tabela 2. Quantidades de cada solução estoque para preparo de uma solução nutritiva Hoagland com 50% de força iônica

Solução ⁽¹⁾	Retirar por L	Total para 280 L ⁽²⁾
1	0,5 mL	140 mL
2	3 mL	840 mL
3	2 mL	560 mL
4	1 mL	280 mL
5	0,5 mL	140 mL
6	0,5 mL	140 mL ⁽³⁾
Total		2.100 mL

⁽¹⁾ Número de cada solução estoque da Tabela 1.

⁽²⁾ 280 L = 55 recipientes x 5 L e mais 5 L para o caso de algum acidente.

⁽³⁾ No preparo da solução, sempre adicionar a solução 6 (Fe-EDTA) por último, para evitar a reação com outros elementos e a precipitação.

A partir do exemplo acima, é necessário um recipiente onde a capacidade mínima seja de 280 L para o acondicionamento total dessa solução nutritiva de Hoagland a 50%. As soluções estoques podem ser armazenadas em caixa de isopor durante o processo de preparo da solução nutritiva, em casa de vegetação. Na sequência, com o auxílio de provetas graduadas mede-se o volume de cada solução e as mesmas são adicionadas na sequência numérica (Tabela 2), com consecutiva agitação da solução. A agitação pode ser realizada com o auxílio de uma espátula de plástico após a adição de cada solução. Por fim, agitar e aferir o pH da solução final. O pH deve ficar entre 5,5 e 6,0. O pH da solução poderá ser ajustado para mais ou para menos, com a adição de gotas das soluções de NaOH 1,0 mol.L⁻¹ e HCl 1,0 mol.L⁻¹, previamente preparadas. A troca de solução nutritiva no período de aclimação das plantas, antes do início das coletas de solução para avaliação dos parâmetros, é realizada a cada três dias, com pH sendo aferido todos os dias em cada vaso.

Instalação de um ensaio

Para a condução de um ensaio para a análise cinética de nutrientes devem ser seguidas as etapas detalhadas abaixo:

- **Etapa 1: Preparo das plantas.** As plantas são acondicionadas em recipientes de cinco litros contendo solução nutritiva, como a solução de Hoagland (Jones Jr., 2005). O ambiente apropriado em casa de vegetação deve ter temperatura média de 25 °C e umidade relativa do ar em torno de 60%.

- **Etapa 2: Redistribuição de nutrientes e carência nutricional.** As plantas permanecem em solução contendo CaSO_4 $0,03 \text{ mol.L}^{-1}$, durante 15 a 20 dias, para provocar uma redistribuição das reservas internas de nutrientes e estimular o sistema de absorção pela carência de nutrientes. A solução com CaSO_4 mantém a integridade das raízes nesse período. A integridade da parede celular é mantida porque o cálcio (Ca) é o ponto de ligação entre pectatos que formam e dão estabilidade às membranas celulares (Proseus; Boyer, 2006).
- **Etapa 3: Marcha cinética.** Após o período de preparação descrito na Etapa 2, as plantas deverão ser retiradas dos recipientes e as raízes lavadas com água destilada, para a retirada do excesso de CaSO_4 . A partir desse ponto, as plantas estão preparadas para o início da avaliação cinética de absorção. Estas serão acomodadas em recipientes com cinco litros da solução nutritiva Hoagland, com 50% da concentração (mg.L^{-1}) ($\text{N-NO}_3^- = 98$, $\text{N-NH}_4^+ = 7$, $\text{P} = 15,5$, $\text{K} = 117$, $\text{Ca} = 80$, $\text{Mg} = 24,3$, $\text{S} = 35$, $\text{Fe-EDTA} = 2,5$, $\text{Cu} = 0,01$, $\text{Zn} = 0,075$, $\text{Mn} = 0,25$, $\text{B} = 0,25$ e $\text{Mo} = 0,005$), por uma hora (período estacionário) para equilibrar o sistema de absorção após a carência forçada de nutrientes. Após o período estacionário, a solução deverá ser substituída por uma nova solução nutritiva Hoagland (50%), como a solução de avaliação, e as coletas iniciadas. A primeira coleta será 24 horas após a transferência das plantas. A partir desse momento, nas primeiras 24 horas serão feitas amostragens a cada seis horas, em um total de quatro. Após, as amostragens serão de três em três horas, em um total de oito. Por fim, nas últimas 24 horas as coletas serão de hora em hora, contabilizando 72 horas de avaliação e um total de 37 coletas. A coleta, contabilizada como 'tempo zero', é realizada no momento da troca de solução, após o período estacionário.

Caso o interesse seja avaliar a quantificação de N-NO_3^- e N-NH_4^+ , as coletas podem ser de 10 mL de solução por recipiente para determinação em Auto-Analisador de Fluxo Segmentado, ou 50 mL, caso a determinação seja em destilador de arraste de vapor.

Deve-se procurar manter o nível da solução no recipiente pela adição de uma peça sólida de volume similar ao que foi retirado a cada amostragem, de modo que as raízes permaneçam completamente submersas na solução.

- **Etapa 4: Coletas das plantas.** Após a marcha cinética, as plantas são removidas do recipiente e separadas em folhas, caules e raízes. A altura das plantas é determinada com auxílio de uma fita métrica, enquanto o diâmetro do caule é determinado com um paquímetro universal, analógico ou digital. A matéria fresca (MF) deve ser determinada usando uma balança digital. Caso seja de interesse avaliar o incremento da altura e diâmetro de caule, bem como a MF da planta inteira, estas variáveis poderão ser mensuradas antes do início do experimento. O volume da solução nutritiva remanescente nos vasos deve ser mensurado no final do experimento, usando uma proveta. Os órgãos da planta coletados separadamente devem ser secos em estufa de circulação forçada de ar a $65 \text{ }^\circ\text{C}$ até massa constante, para determinação da matéria seca (MS). Os órgãos secos devem ser moídos em moinho tipo Willey, preparados e reservados para as análises a serem realizadas.

Sistema de aeração usado na metodologia

Para a instalação do sistema de aeração é necessário primeiro verificar qual a área que será ocupada pelas plantas, considerando a disposição dos recipientes na bancada em casa de vegetação (Figura 1). Desse modo, coloca-se o número de compressores de acordo com a quantidade total de litros de solução utilizada nos recipientes, calculando a força necessária para disponibilizar oxigênio às

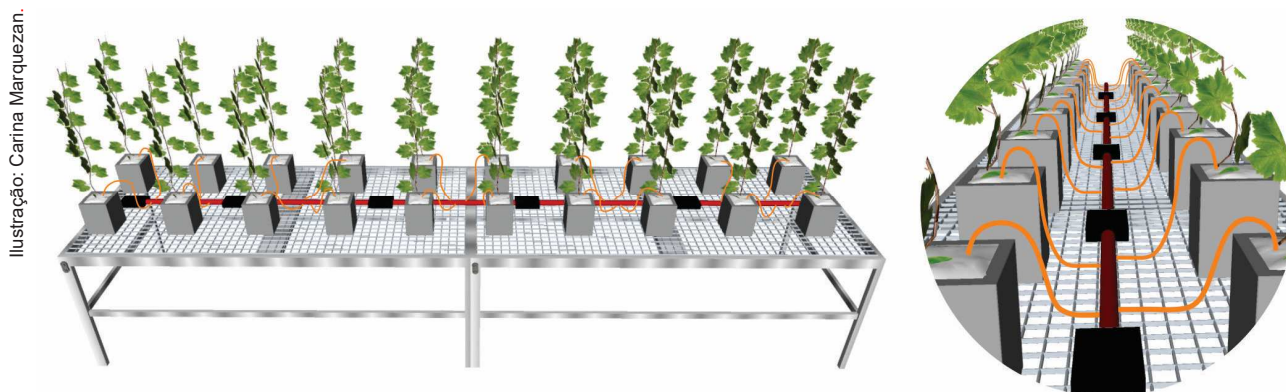


Figura 1. Sugestão de organização dos vasos e do sistema de aeração.

plantas. No momento da testagem da saída de ar é importante que a planta não trepide dentro do recipiente em virtude da injeção de oxigênio no sistema.

Na superfície de cada recipiente deve-se adicionar uma lâmina de isopor de 5 cm de espessura, para manter a planta ereta, impedir a entrada de radiação solar e a evaporação da solução. Um orifício central deve ser ajustado na lâmina de isopor para acomodar e fixar a planta junto à solução, evitando a imersão parcial da planta, e outro orifício menor deve-se ser alocado na lateral para entrada do equipamento de aeração. A Figura 2 demonstra de forma esquemática o funcionamento e a alocação da planta dentro do balde com a tampa de isopor e esponja, assim como o sistema de aeração.

Análises de nutrientes no tecido e na solução

O tecido dos órgãos reservados poderá ser submetido à digestão sulfúrica ou nitroperclórica ou mesmo outro tipo, dependendo da opção de metodologia para a análise da amostra (Tedesco et al., 1995; Silva, 2009). Os nutrientes no extrato químico do tecido ou na solução poderão ser determinados seguindo metodologias apropriadas para a determinação de nutrientes, como aquelas descritas em Tedesco et al. (1995). Convém destacar que para a determinação de formas de N (como por exemplo, nitrato e amônio) na solução, sugere-se que elas sejam realizadas em Auto-Analisador de Fluxo Segmentado. Essa é a forma mais rápida e precisa.

A partir das concentrações dos nutrientes determinados em cada alíquota da solução coletada, em cada tempo, os volumes de solução inicial e final nos recipientes e com a massa fresca das raízes podem ser calculados os valores de V_{max} e K_m , pelo software Influx 1.0 (desenvolvido pelo grupo de pesquisa Grupo de Estudo de Predição de Adubação e Potencial de Contaminação de Elementos no Solo - GEPACES-UFSM). Para o valor de C_{min} são consideradas as concentrações de nutrientes presentes na solução de depleção no período de até 60 horas ou último horário colocado. O influxo líquido (IL) é calculado de acordo com a Equação 1, proposta por Michaelis e Menten (1913) e modificada por Nielsen e Barber (1978):

$$IL = \left[\frac{V_{max} \times (C - C_{min})}{K_m + (C - C_{min})} \right] \quad \text{Equação 1}$$

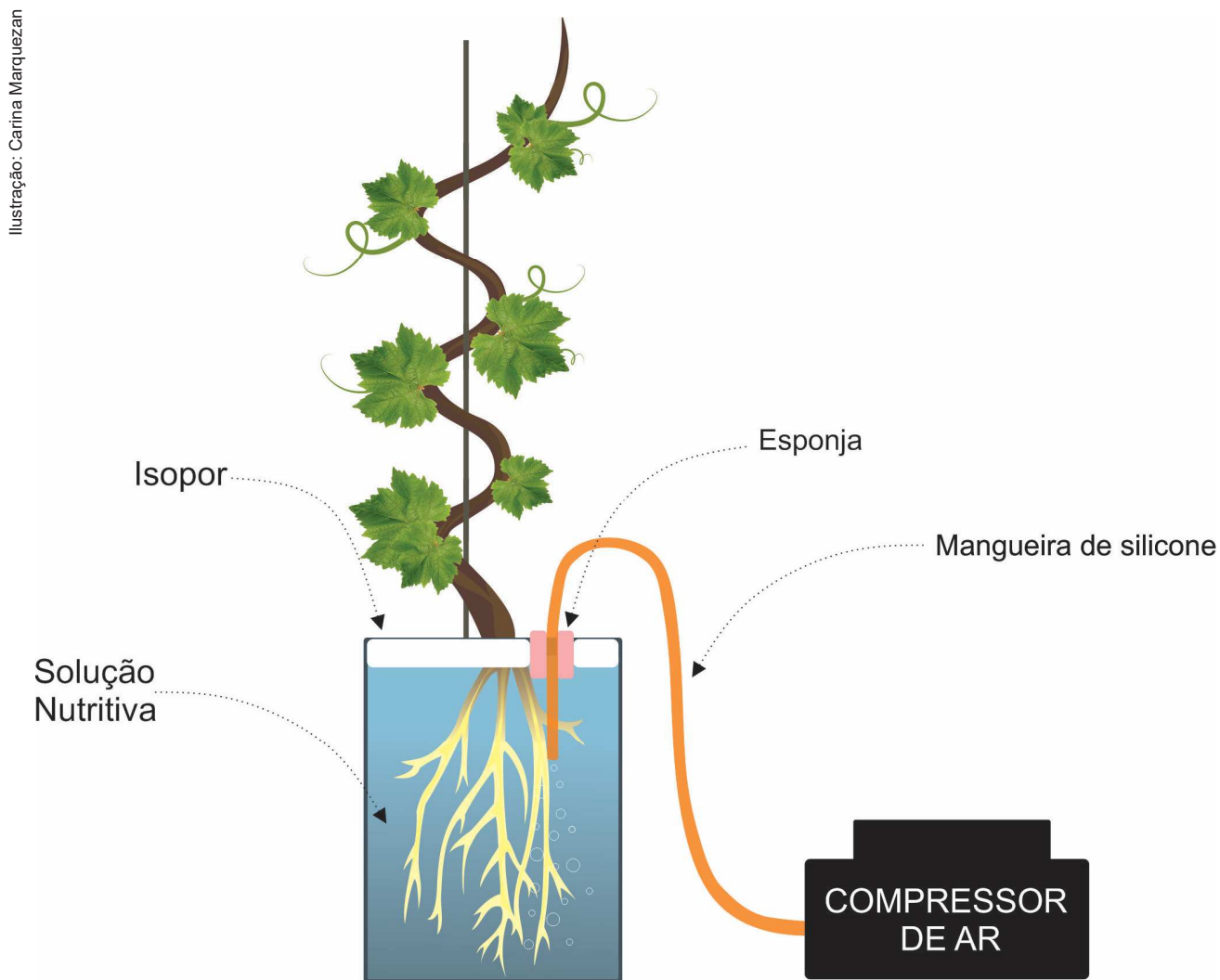


Figura 2. Detalhes das mudas de videira no momento do transplante em recipiente contendo a solução nutritiva.

Cálculos e análises estatísticas

Os dados obtidos das leituras nas amostras de solução coletadas devem ser organizados em planilhas eletrônicas, na unidade de micromol, seguindo a cronologia de análise com as repetições de cada cultivar lado a lado. Em seguida, deve-se verificar se houve diferença significativa comparando o início da absorção e o final. Havendo diferença, deve-se retirar os *outliers* (dados discrepantes ou anomalias) e, se necessário, normalizar os dados, considerando linha a linha para não embaralhar os horários.

No software Influx 1.0 a entrada dos dados é feita por tratamento. Em cada tratamento é necessário inserir o volume inicial dos vasos, o volume final, o volume coletado por hora, massa seca da raiz e área da raiz (se essa variável for mensurada). Após calcular e exportar os dados, os resultados obtidos devem ser submetidos à análise de variância e, quando significativos podem ser comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro ($P < 0,05$) (Paula et al., 2018; Paula, 2019; Kulmann et al., 2020a, 2020b; Sete et al., 2020).

Referências

- AZIZ, M. M.; PALTA, J. A.; SIDDIQUE, K. H. M.; SADRAS, V. O. Five decades of selection for yield reduced root length density and increased nitrogen uptake per unit root length in Australian wheat varieties. **Plant and Soil**, v. 413, n. 1–2, p. 181–192, 2017. DOI: 10.1007/S11104-016-3059-Y.
- CLAASSEN, N.; BARBER, S. A. A method for characterizing the relation between nutrient concentration and flux into roots of intact plants. **Plant Physiology**, v. 54, n. 4, p. 564–568, Oct. 1974. DOI: 10.1104/pp.54.4.564.
- CORDELL, D.; DRANGERT, J. O.; WHITE, S. The story of phosphorus: Global food security and food for thought. **Global Environmental Change**, v. 19, n. 2, p. 292–305, May 2009. DOI: 10.1016/j.gloenvcha.2008.10.009.
- DALBÓ, M. A.; SOUZA, A. L. K. Rootstock breeding for resistance to grapevine decline and dieback in southern Brazil. **Acta Horticulturae**, v. 1248, p. 123–128, 2019. (XII International Conference On Grapevine Breeding And Genetics) DOI: 10.17660/ActaHortic.2019.1248.18.
- GODFRAY, H. C. J.; BEDDINGTON, J. R.; CRUTE, I. R.; HADDAD, L.; LAWRENCE, D.; MUIR, J. F.; PRETTY, J.; ROBINSON, S.; THOMAS, S. M.; TOULMIN, C. Food security: the challenge of feeding 9 billion people. **Science**, v. 327, n. 5967, p. 812–818, Feb. 2010. DOI: 10.1126/science.1185383.
- GRIFFITHS, M.; YORK, L. M. Targeting root ion uptake kinetics to increase plant productivity and nutrient use efficiency. **Plant Physiology**, v. 182, n. 4, p. 1854–1868, April 2020. DOI: 10.1104/PP.19.01496.
- JONES JR, J. B. **Hydroponic: a practical guide for the soilless grower**. CRC Press, 2005. Volume 2, 423p.
- JORDAN, M. O.; VERCAMBRE, G.; GOMEZ, L.; PAGES, L. The early spring N uptake of young peach trees (*Prunus persica*) is affected by past and current fertilizations and levels of C and N stores. **Tree Physiology**, v. 34, p. 61–72, Jan. 2014. DOI: 10.1093/treephys/tpt109.
- KULMANN, M. S. de S.; PAULA, B. V. de; SETE, P. B.; ARRUDA, W. S.; SANS, G. A.; TAROUÇO, C. P.; TABALDI, L. A.; NICOLOSO, F. T.; BRUNETTO, G. Morphological and kinetic parameters of the absorption of nitrogen forms for selection of Eucalyptus clones. **Journal of Forestry Research**, v. 32, n. 4, p. 1-13, July 2020a. DOI: 10.1007/s11676-020-01195-7.
- KULMANN, M. S. de S.; SETE, P. B.; PAULA, B. V. de; STEFANELLO, L. O.; SCHWALBERT, R.; SCHWALBERT, R. A.; ARRUDA, W. S.; SANS, G. A.; PARCIANELLO, C. F.; NICOLOSO, F. T.; MELO, G. W. B. de; SANTOS, H. P. dos; BRUNETTO, G. Kinetic parameters govern of the uptake of nitrogen forms in 'Paulsen' and 'Magnolia' grapevine rootstocks. **Scientia Horticulturae**, v. 264, n. 109174, p. 1-13, 2020b. DOI: 10.1016/j.scienta.2020.109174.
- MARCON FILHO, J. L.; RUFATO, L.; BOGO, A.; MACEDO, T. A. de; WÜRZ, D. A.; KRETZSCHMAR, A. A. Viticultural performance of Cabernet Sauvignon clones in highland region of southern Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 41, n. 5, p. 1-14, 2019. DOI 10.1590/0100-29452019483.
- MARTINEZ, H.E.P.; OLIVOS, A.; BROWN, P.H.; CLEMENTE, J.M.; BRUCKNER, C.H.; JIFON J.L. Short-term water stress affecting NO₃⁻ absorption by almond plants. **Scientia Horticulturae**, v. 197, p. 50–56, 2015. DOI 10.1016/j.scienta.2015.10.040.
- MELO, G. W. B. de; SETE, P. B.; AMBROSINI, V. G.; FREITAS, R. F.; BASSO, A., BRUNETTO, G. Nutritional status, yield and composition of peach fruit subjected to the application of organic compost. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 38, n. 1, p. 103-109, Mar. 2016. DOI: 10.4025/actasciagr.v38i1.25638.
- MICHAELIS, L.; MENTEN, M. M. L. The kinetics of invertin action. **FEBS Letters**, v. 587, n. 17, p. 2712-2720, 1913. DOI: 10.1016/j.febslet.2013.07.015.
- MOTA, R. V. da; GLÓRIA, M. B. A.; SOUZA, B. S. de; PEREGRINO, I.; PIMENTEL, R. M. de A.; DIAS, F. A. N.; SOUZA, L. C. de; SOUZA, A. L. de; REGINA, M. de A. Bioactive compounds and juice quality from selected grape cultivars. **Bragantia**, v. 77, n. 1, p. 62-73, Jan./mar. 2017. DOI: 10.1590/1678-4499.2016369.
- NIELSEN, N. E.; BARBER, S. A. Differences among genotypes of corn in the kinetics of P uptake. **Agronomy Journal**, v. 70, p. 695-698, 1978.
- PAULA, B. V. de. **Estratégias para aumentar a recuperação de nitrogênio em pessegueiro**. 2019. 151 p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo), Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Santa Maria-RS. Disponível em: <http://repositorio.ufsm.br/handle/1/19154>. Acesso em: 20 dez. 2021.
- PAULA, B. V. de; MARQUES, A. C. R.; RODRIGUES, L. A. T.; SOUZA, R. O. S. de; KULMANN, M. S. S.; KAMINSKI, J.; CERETTA, C. A.; MELO, G. W. B. de; MAYER, N. A.; ANTUNES, L. E.; RICACHENEVSKY, F. K.; NICOLOSO, F.

T.; BRUNETTO, G. Morphological and kinetic parameters of the uptake of nitrogen forms in clonal peach rootstocks. *Scientia Horticulturae*, v. 239, p. 205-209, 2018. DOI: 10.1016/j.scienta.2018.05.038.

PROSEUS, T. E.; BOYER, J. S. Calcium pectate chemistry controls growth rate of *Chara corallina*. *Journal of Experimental Botany*, v. 57, n. 15, p. 3989-4002, Dec. 2006. DOI: 10.1093/jxb/erl166.

RASHMI, I.; ROY, T.; KARTIKA, K. S.; PAL, R.; COUMAR, V.; KALA, S.; SHINOJI, K. C. Organic and inorganic fertilizer contaminants in agriculture: Impact on soil and water resources. In: NAEF, M. M.; ANSARI, A.; GILL, S. (eds) *Contaminants in Agriculture*. Springer: Cham., p. 3-41, 2020. DOI: 10.1007/978-3-030-41552-5_1.

RYAN, J.; IBRIKCI, H.; DELGADO, A.; TORRENT, J.; SOMMER, R.; RASHID, A. Significance of phosphorus for agriculture and the environment in the West Asia and North Africa region. *Advances in Agronomy*, v. 114, p. 91-153, 2012. DOI: 10.1016/B978-0-12-394275-3.00004-3.

SCARIOTTO, S.; CITADIN, I.; RASEIRA, M. do C. B.; SACHET, M. R.; PENSO, G. A. Adaptability and stability of 34 peach genotypes for leafing under Brazilian subtropical conditions. *Scientia Horticulturae*, v. 155, p. 111-117, 2013. DOI: 10.1016/j.scienta.2013.03.019.

SCHRADER, J. A.; COCHRAN, D. R.; DOMOTO, P. A.; NONNECKE, G. R. Yield and berry composition of cold-climate grape cultivars and advanced selections in Iowa climate. *HortTechnology*, v. 30, n. 2, p. 193-203, Feb. 2020. DOI: 10.21273/HORTTECH04557-19.

SETE, P. B.; PAULA, B. V. de; KULMANN, M. S. S.; ROSSI, A. de; ROZANE, D. E.; HINDERSMANN, J.; KRUG, A. V.; BRUNETTO, G. Kinetic parameters related to nitrogen uptake efficiency of pear trees (*Pyrus communis*). *Scientia Horticulturae*, v. 272, n. 109530, June 2020. DOI: 10.1016/j.scienta.2020.109530.

SILVA, F. C. da (ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H. *Análises de solo, plantas e outros materiais*. 2. ed. Porto Alegre: Departamento de solos, UFRGS 1995. 174p.

TEISSEDRE, P.L. Composition of grape and wine from resistant vines varieties. *OENO One*, v.52, n. 3, p. 211-217, 2018. DOI: 10.20870/oeno-one.2018.52.3.2223

YANG, T.; ZHU, L.; WANG, S.; GU, W.; HUANG, D.; XU, W.; JIANG, A.; LI, S. Nitrate uptake kinetics of grapevine under root restriction. *Scientia Horticulturae*, v. 111, n. 4, p. 358-364, 2007. DOI: 10.1016/j.scienta.2006.11.005.

ZANGHELINI, J. A.; BOGO, A.; DAL VESCO, L. L.; GOMES, B. R.; MECABÔ, C. V.; HERPICH, C. H.; WELTER, L.J. Response of PIWI grapevine cultivars to downy mildew in highland region of southern Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, v. 154, p. 1051-1058, 2019. DOI: 10.1007/s10658-019-01725-y.

Embrapa

Uva e Vinho