

MATEUS ALVES DOS SANTOS

**OXALATO DE CÁLCIO E NITROGÊNIO NA MOBILIZAÇÃO DE
RESERVATÓRIOS DE CÁLCIO NO SOLO PELO EUCALIPTO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de Magister Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2016

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

S237o
2016 Santos, Mateus Alves, 1989-
Oxalato de cálcio e nitrogênio na mobilização de
reservatórios de cálcio no solo pelo eucalipto / Mateus Alves
Santos. – Viçosa, MG, 2016.
vii, 43f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Maurício Dutra Costa.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.39-42.

1. Eucalipto - Efeito dos minerais. 2. Plantas - Nutrição.
3. Solos - Teor de cálcio. 4. Oxalato de cálcio. 5. Solubilidade.
6. Amônio. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Fitotecnia. Programa de Pós-graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 634.92

MATEUS ALVES DOS SANTOS

**OXALATO DE CÁLCIO E NITROGÊNIO NA MOBILIZAÇÃO DE
RESERVATÓRIOS DE CÁLCIO NO SOLO PELO EUCALIPTO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

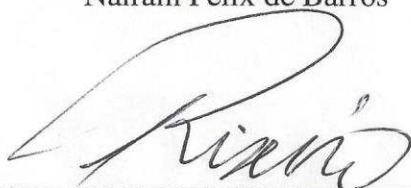
APROVADA: 31 de março de 2016.



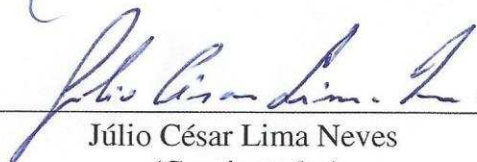
Nairam Félix de Barros



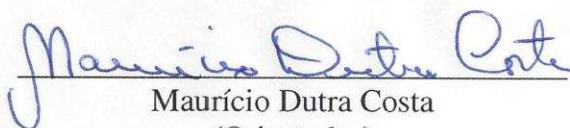
Guilherme Luiz de Jesus



Ivo Ribeiro da Silva
(Coorientador)



Júlio César Lima Neves
(Coorientador)



Maurício Dutra Costa
(Orientador)

À minha mãe, Maria Aparecida, pelo incentivo e pelo exemplo de vida.

Aos meus tios, Ana e Antônio, pelo amor, pela dedicação e pela confiança.

Aos meus irmãos, Annelise, Jully, Felipe, Isabelly e Guilherme.

Aos meus amigos, pelos grandes momentos vividos.

Dedico.

“Cumpra o seu papel, mesmo que ele seja humilde. Viver no
seu papel é vida. Viver no papel dos outros é morte.”

(Autor desconhecido)

AGRADECIMENTOS

À Deus, por tudo, e aos meus professores de ensino fundamental, médio e superior pela minha formação e por todo conhecimento compartilhado.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade de cursar o mestrado.

Aos Departamentos de Microbiologia e de Solos, em especial ao funcionário Antônio Carlos, pelas estruturas oferecidas na condução dos experimentos e análises.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Professor Maurício Dutra Costa, pela excelente orientação e pelas sugestões dada à pesquisa realizada e pelo exemplo de pesquisador. Agradeço também por toda motivação, pela confiança, pela amizade e pela atenção dada durante esses dois anos de trabalho.

Ao Professor Ivo Ribeiro da Silva, pelas sugestões e por disponibilizar seu laboratório para realização das análises.

Ao Professor Júlio César Lima Neves, pelas valiosas sugestões na montagem dos experimentos e pela atenção dada na interpretação dos resultados obtidos.

Ao Rafael Vasconcelos Valadares, pela amizade e pela grande ajuda no processamento dos dados e nas análises estatísticas.

Aos amigos e funcionários do Laboratório de Solos Florestais, Sr. Cardoso, Beto e Poliana, pela ajuda e pela orientação nas análises do material vegetal.

Aos funcionários do Laboratório de Isótopos Estáveis, João Milagres e Humberto, pela ajuda na realização das análises, e ao Carlinhos, pela disponibilidade na leitura dos extratos por absorção atômica.

Ao estagiário Tiago, pela ajuda na montagem e na condução do experimento.

Aos amigos de república, de graduação, de pós-graduação e do laboratório de Isótopos Estáveis, pela convivência e por fazerem parte da minha história nesses anos de Viçosa.

Ao viveiro de mudas CLONAR, em especial ao diretor técnico José Mauro, por ceder gentilmente as mudas de eucalipto para realização do experimento.

Ao professor Caetano Marciano de Souza, pela amizade e por contribuir para minha formação profissional.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a concretização deste trabalho.

BIOGRAFIA

MATEUS ALVES DOS SANTOS, filho de Osmarielson Batista dos Santos e Maria Aparecida Alves Coelho, nasceu aos 17 dias do mês de dezembro de 1989, no município de Piranhas, Estado de Goiás.

Em 2004, concluiu o ensino fundamental no Colégio Municipal Rio Branco, em Visconde do Rio Branco, Minas Gerais.

Em 2007, concluiu o ensino médio no Colégio Equipe na mesma cidade.

Em março de 2008, ingressou no curso de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa, graduando-se em maio de 2013.

Em março de 2014, iniciou o Mestrado no programa de pós-graduação em Fitotecnia também na Universidade Federal de Viçosa, sob orientação do Professor Maurício Dutra Costa.

CONTEÚDO

RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	vii
INTRODUÇÃO GERAL.....	01
LITERATURA CITADA.....	03
REVISÃO DE LITERATURA.....	05
Ca no solo.....	05
Importância do Ca.....	06
Demanda de Ca.....	07
Mecanismos de obtenção de Ca pela planta.....	07
Oxalato de Ca.....	08
LITERATURA CITADA.....	09
ARTIGO.....	12
Oxalato de cálcio e nitrogênio na mobilização de reservatórios de cálcio no solo pelo eucalipto	12
CONCLUSÕES GERAIS.....	43

RESUMO

SANTOS, Mateus Alves, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2016. **Oxalato de cálcio e nitrogênio na mobilização de reservatórios de cálcio no solo pelo eucalipto.** Orientador: Maurício Dutra Costa. Coorientadores: Ivo Ribeiro da Silva, Júlio César Lima Neves e Marcos Rogério Tótola.

No Brasil, as áreas plantadas com eucalipto apresentam topografia diversa, solos de reação ácida e concentrações limitantes de nutrientes como o Ca e o N. No entanto, os plantios de eucalipto apresentam elevada aquisição desses elementos, em especial do Ca, em função do rápido crescimento. O oxalato de cálcio (CaOx) pode desempenhar papel importante nos ecossistemas florestais, mas a sua contribuição para a mobilização de compartimentos de Ca no solo é mal compreendida. O presente trabalho teve como objetivo estudar as interações entre doses de CaOx e de N-NH_4^+ na nutrição do eucalipto cultivado em solo com teor não detectável de Ca trocável. Para tanto, mudas de eucalipto (clone AEC 144) foram cultivadas em casa de vegetação em vasos com $3,0 \text{ dm}^3$ de solo e com os tratamentos arranjados em esquema fatorial 5×5 , com cinco doses de Ca (0; 0,10; 0,20; 0,40 e $0,80 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$, na forma de CaOx) e cinco doses de N (0; 25; 50; 100 e 200 mg dm^{-3} , na forma de cloreto de amônio). Outros dois experimentos foram conduzidos em paralelo para avaliar a estabilidade no solo e a solubilidade em diferentes faixas de pH do CaOx. A produção de matéria seca e os conteúdos de Ca e N foram altamente dependentes do N-NH_4^+ aplicado. A maior eficiência de utilização de Ca ocorreu no tratamento sem aplicação de Ca e na maior dose de N. O cálcio proveniente da porção de Ca não-trocável do solo foi transferido para a planta de eucalipto e essa transferência aumentou com o fornecimento crescente de N-NH_4^+ , estabilizando-se na maior dose aplicada. O acúmulo de cálcio em plantas de eucalipto é dependente da absorção de nitrogênio. A solubilização de CaOx variou de 62 a 94 % para diferentes doses do composto após 60 dias de incubação do solo. A liberação de Ca a partir do CaOx do solo não variou em função do pH. A fertilização nitrogenada (N-NH_4^+) promove a mobilização de reservatórios de Ca não-trocáveis pelo eucalipto cultivado em solo que não apresenta teor detectável do elemento.

ABSTRACT

SANTOS, Mateus Alves, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2016. **Calcium oxalate and nitrogen on the mobilization of calcium reservoir in soil by eucalypt.** Adviser: Maurício Dutra Costa. Co-advisers: Ivo Ribeiro da Silva, Júlio César Lima Neves and Marcos Rogério Tótola.

In Brazil, the areas used for eucalypt cultivation present diverse topography, acidic soils, and limiting concentrations of nutrients, such as Ca and N. However, eucalypt stands present high requirements for these elements, especially Ca, due to rapid plant growth. Calcium oxalate (CaOx) can play key roles in forest ecosystems, but its contribution to the mobilization of Ca compartments in the soil is still poorly understood. The objective of this work was to study the interactions between CaOx and N-NH₄⁺ doses on eucalypt nutrition in a soil with undetectable concentrations of exchangeable Ca. For that, eucalypt clones (AEC 144) were grown in a greenhouse in pots with 3.0 dm³ of soil and subjected to treatments arranged in a 5 x 5 factorial design corresponding to five Ca (0; 0.10; 0.20; 0.40 and 0.80 cmol_c dm⁻³ as CaOx base) and five N (0; 25; 50; 100 and 200 mg dm⁻³ as ammonium chloride) doses. Two additional experiments were conducted simultaneously to evaluate the stability of CaOx in the soil and its solubility at different pH ranges. The dry matter production and the Ca and N contents were highly dependent on the N-NH₄⁺ applied. The higher efficiency of Ca use was observed for the treatment with no Ca application and highest N doses. The calcium from non-exchangeable fraction was transferred to the eucalypt plants and this transference increased with increasing N-NH₄⁺ supply, stabilizing at the highest N dose applied. Calcium accumulation in eucalypt plants was shown to be dependent on nitrogen uptake. CaOx solubilization varied from 62 to 94 % for the different CaOx doses at 60 days of incubation. Ca release from CaOx did not vary within the pH range tested. Nitrogen fertilization (N-NH₄⁺) mobilizes non-exchangeable Ca reservoirs by eucalypt cultivated in soils with no detectable content of exchangeable Ca.

INTRODUÇÃO GERAL

O crescimento da demanda por produtos florestais tem resultado ao plantio de espécies de rápido crescimento, com destaque para o eucalipto, em regiões com solos com limitações físicas e químicas e em processo de degradação, deixando as áreas de melhor qualidade para o cultivo de culturas agrícolas.

O eucalipto é uma espécie florestal tolerante à acidez do solo, ou seja, apresenta bom crescimento mesmo em solos com alta acidez trocável e ativa (Novais et al. 1990), sendo, portanto, dispensável a calagem com o objetivo de corrigir a acidez (Barros & Novais 1999).

A produção florestal é determinada pela quantidade de radiação solar interceptada pela copa e pela eficiência de conversão da radiação em biomassa. Essa eficiência é principalmente influenciada pela disponibilidade de água e de nutrientes. Aumentando-se o suprimento destes fatores, tende-se a aumentar a produção (Epstein & Bloom 2006) que é fortemente influenciada pelas interações entre eles até que seja atingido nível ótimo. A água e os nutrientes são os principais limitantes da produtividade florestal (Barros & Comerford 2002).

A sustentabilidade da produtividade de uma floresta é determinada, dentre outros fatores, pelo balanço de nutrientes no sistema solo-planta. Respostas positivas à adição de diferentes nutrientes e, ou, às suas interações com a água têm sido relatadas para plantios de eucalipto no Brasil (Barros & Comerford 2002; Stape et al. 2006). A produção de biomassa é também determinada pelas características genéticas da espécie e maiores produtividades estão associadas com maiores exportações de nutrientes do sítio (Santana et al. 2002).

A baixa disponibilidade de nutrientes minerais, dentre eles o Ca, Mg e P, são fatores responsáveis pelo menor desenvolvimento das plantações florestais em condições de campo (Barros et al. 1978). No Brasil, as áreas utilizadas para a cultura de eucalipto apresentam topografia diversa, solos de reação ácida, com pH inferior a 5,5 (Vale et al. 1996) e concentrações limitantes de nutrientes, a exemplo do Ca (Ritchey et al. 1982). No entanto, os plantios de *Eucalyptus* spp. apresentam elevada mobilização deste elemento em função do seu rápido crescimento. O acúmulo de cálcio na biomassa de plantações adultas é elevado, variando de 280 a 736 kg ha⁻¹, localizando-se principalmente na casca e na madeira (Foelkel 2006).

Santana et al. (2008) avaliaram a biomassa, o conteúdo e a alocação de nutrientes em árvores de eucalipto em diferentes idades e regiões do Brasil e, para cálcio, verificaram, que para uma mesma estimativa de biomassa da parte aérea (100 t ha^{-1}), que o conteúdo variou de 176 a $590 \text{ kg } 100 \text{ t}^{-1} \text{ ha}^{-1}$.

Gonzalez et al. (2009) relataram pela primeira vez o acúmulo de Ca na forma de cristais de oxalato de cálcio (CaOx) nas ectomicorrizas e raízes de eucalipto, com 2,5 anos de idade, cultivado em solo com baixa disponibilidade de Ca trocável na região de Viçosa, MG, e observaram que 52,6 % das ectomicorrizas apresentaram abundante acúmulo de CaOx. Já as raízes não colonizadas apresentaram frequência de acúmulo de CaOx substancialmente mais baixa, 17,5 %, indicando que as ectomicorrizas associadas a *Eucalyptus* spp. induzem o armazenamento de Ca na forma de CaOx no sistema radicular da planta hospedeira.

A constituição de reservatórios de Ca na raiz na forma de CaOx, induzida pela colonização por fungos ectomicorrízicos, sugere papel importante desses microrganismos no suprimento de Ca para o eucalipto (Gonzalez et al. 2009), especialmente durante a etapa de maior crescimento da planta, quando a demanda pelo elemento é alta e sua disponibilidade no solo é baixa (Ritchey et al. 1982; Barros & Novais 1996). A simbiose ectomicorrízica surgiu possivelmente como resultado de uma adaptação da planta a condições de baixa disponibilidade de nutrientes (Wallender et al. 1997; Lapeyrie et al. 1990).

A adoção do sistema de cultivo mínimo na área florestal, que se constitui em realizar preparo de solo localizado apenas na linha ou na cova de plantio, a aplicação de calcário é feita, na maioria dos casos, na superfície do solo em área total ou em faixa e sem incorporação (Gonçalves et al. 2000). Rodrigues (2013) verificou que o eucalipto plantado em um solo que não recebeu aplicação de Ca e que não tinha teor detectável até 60 cm de profundidade, mesmo assim, apresentou um crescimento relativo de 50 %, comparado aos melhores tratamentos (calcário mais gesso) e acumulou 38 kg ha^{-1} de Ca na parte aérea, já aos 18 meses de idade.

Diante do exposto acima, torna-se necessário o melhor entendimento das estratégias do eucalipto de acessar os reservatórios de Ca do solo. O presente trabalho teve como objetivo estudar as interações entre doses de CaOx e de N-NH_4^+ na nutrição do eucalipto cultivado em solo com teor não detectável de Ca trocável.

LITERATURA CITADA

- Barros, N.F. & Comerford, N.B., 2002. Sustentabilidade da produção de florestas plantadas na região tropical. In: Alvarez V.H.; Schaefer, C.E.G.R.; Barros, N.F.; Mello, J.W.V. & Costa, L.M., eds. Tópicos em ciência do solo, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Viçosa, MG. v.2. pp.487-592.
- Barros, N.F. & Novais, R.F., 1999. Eucalipto. In: Ribeiro, A.C.; Guimarães, P.T.G.; Alvarez V., V.H. (Eds.). Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação. Viçosa: CFSEMG/UFV, pp.305-307.
- Barros, N.F. & Novais, R.F., 1996. Eucalypt nutrition and fertiliser regimes in Brazil. In: Attiwill, P.M., Adams, M.A. (Eds.), Nutrition of Eucalypts. CSIRO, Australia, pp.335-355.
- Barros, N.F.; Brandi, R.M. & Couto, L., 1978. Efeitos de recipientes na sobrevivência e crescimento de mudas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden, no viveiro e no campo. Viçosa. Revista Árvore, v.2, n.2, pp.141- 151.
- Epstein, E. & Bloom, A.J., 2006. Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas. Londrina, Planta, 2006. 402p.
- Foelkel, C., 2006. Eucalyptus online book. Access under: <www.eucalytus.com.br>. Access date: 20 outubro de 2015.
- Gonçalves, J.L.M. et al., 2000. Reflexos do cultivo mínimo e intensivo do solo em sua fertilidade e na nutrição das árvores. In: Gonçalves, J. L. M.; Benedetti, V. (Eds.). Nutrição e fertilização florestal. Piracicaba: IPEF, pp.1-57.
- Gonzalez, J.A.Z. et al., 2009. Acúmulo de ácido oxálico e cristais de cálcio em ectomicorizas de eucalipto. II - Formação de cristais de oxalato de cálcio induzida por fungos ectomicorrízicos em raízes laterais finas. Revista Brasileira de Ciencia do Solo, (33), pp.555-562.
- Lapeyrie, F. et al., 1990. Study of intracellular and extracellular calcium oxalate accumulation by ectomycorrhizal fungi in pure culture or in association with Eucalyptus seedlings. Symbiose, (9), pp.163-166.
- Novais, R. F. et al., 1990. Nutrição Mineral do eucalipto. In: Barros, N. F. & Novais, R. F. (Eds.) Relação solo-eucalipto. Viçosa: Editora Folha de Viçosa, pp.25-98.
- Ritchey, K.D. et al., 1982. Calcium deficiency in clay B horizons of savanna Oxisols. Soil Science, (6), pp.378-382.

- Rodrigues, F.A.V., 2013. Crescimento de eucalipto em idade jovem e movimentação de cálcio e magnésio no solo em resposta à aplicação de calcário e gesso agrícola. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 72p. (Tese de Doutorado)
- Santana, R.C.; Barros, N.F. & Neves, J.C.L., 2002. Eficiência nutricional e sustentabilidade da produção em procedências de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna* em sítios florestais do Estado de São Paulo. *Revista Árvore*, (26), pp.447-457.
- Santana, R.C. et al., 2008. Alocação de nutrientes em plantios de eucalipto no Brasil. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo*, (32), pp.2723-2733.
- Stape, J.L. et al., 2006. A twin-plot approach to determine nutrient limitation and potential productivity in eucalyptus plantations at landscape scales in Brazil. *Forest Ecology and Management*, (223), pp.358-362.
- Vale, F.R. et al., 1996. Crescimento radicular de espécies florestais em solo ácido. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 31(9), pp.609-616.
- Wallander, H., Wickman, T. & Jacks, G., 1997. Apatite as a P source in mycorrhizal and non-mycorrhizal *Pinus sylvestris* seedlings. *Plant and Soil*, 196(1), pp.123-131.

REVISÃO DE LITERATURA

Ca no solo

O cálcio constitui 3,6 % da crosta terrestre (quinto elemento em abundância). É encontrado em calcita, gesso, conchas de ostras e corais, entre outros. Os minerais primários de Ca mais importantes são a anortita, que contém entre 70 e 140 g kg⁻¹ de Ca, e os piroxênios, com 90 a 160 g kg⁻¹ de Ca. Baixos teores de Ca podem estar presentes em borosilicato (Dechen & Nachtigall 2007). O Ca está presente também em apatitas, compostos isomorfos de Ca₅(PO₄)₃F e Ca₅(PO₄)Cl, fosfatos, tais como o fosfato monocálcico (Ca(H₂PO₄)₂), o dicálcico (Ca₂HPO₄) e o ortofosfato de Ca (Ca₄H(PO₄)₃), que existem principalmente em solos calcários e em solos com altos valores de pH. Minerais de argila como ilita, vermiculita e montmorilonita também contém pequenos teores de Ca (Fassbender 1994).

A maior contribuição para o suprimento de Ca na solução do solo resulta do intemperismo de feldspatos, micas e vermiculita, dentre outros minerais (Kämpf et al. 2009). Os feldspatos ocorrem com maior abundância nas frações areia e silte dos solos, originados de rochas ígneas, sedimentares ou metamórficas (Huang 1989).

O cálcio está presente no solo nas formas estruturais, trocáveis e na solução. Na medida em que é reduzida sua concentração na solução do solo, as reservas tendem a repor novas concentrações, restabelecendo o equilíbrio entre os compartimentos de reserva e as frações prontamente disponíveis para as plantas (Kämpf et al. 2009).

A dinâmica do cálcio no solo é caracterizada frequentemente como Ca trocável, que pode ser definido mecanisticamente ou operacionalmente. Mecanisticamente, Ca trocável é definido como íons hidratados de Ca²⁺ que são adsorvidos por superfícies de cargas negativas do solo, através de interações eletrostáticas e não específicas relativamente fracas (Essington 2004; Dauer & Perakis 2013). Operacionalmente, Ca trocável pode ser definido como um íon removido a partir de uma solução contendo um sal neutro, ao contrário do Ca solúvel, removido por água. Essas duas definições só são equivalentes quando o Ca alvo são cátions que não são adsorvidos especificamente nas superfícies negativas do solo e que não tenham nenhuma contribuição adicional de fonte potencial de cálcio no solo (Essington 2004).

A velocidade com que as reservas minerais repõem os nutrientes na solução do solo é regulada, dentre outros fatores, pela estabilidade e a velocidade de transformações dos minerais, as quais dependem do pH do meio, da presença de ácidos orgânicos e íons

inorgânicos, da eficiência dos processos de precipitação e da remoção dos nutrientes da solução do solo (Kämpf et al. 2009).

A mobilidade de Ca no solo é limitada e, conseqüentemente, sua concentração em profundidade no perfil tende a diminuir, levando ao menor crescimento de raízes em profundidade (Sanzonowicz et al. 1998; Silva et al. 2001).

O Ca pode contribuir para a estabilização e aumento da MOS, o qual melhora a agregação do solo e polimeriza as moléculas orgânicas, formando complexos organometálicos mais estáveis (Munner & Oades 1989a, b). Vasconcelos (2010) observou que a aplicação de Ca como CaSO_4 ou CaSiO_3 aumenta a estabilização do C derivado do resíduo da colheita de eucalipto na classe de agregado 2,00-1,00 mm.

Importância do Ca

O Ca é um elemento essencial para o crescimento de meristemas e, particularmente, para o crescimento e funcionamento apropriado dos ápices radiculares. A principal fração de Ca está nas paredes celulares ou nos vacúolos e organelas, como sais de ácidos orgânicos, fosfato ou fitato. Esta fração pode ser alta em plantas que sintetizam oxalato. O oxalato de Ca é um produto insolúvel que se deposita no vacúolo. O Ca é componente da lamela média, onde exerce função cimentante como pectato de Ca (Dechen & Nachtigall 2007).

O Ca exerce papel estrutural ao manter integridade da membrana citoplasmática, impedindo danos à membrana e evitando a saída de substâncias intracelulares. O elemento parece atuar como modulador da ação de hormônios vegetais, regulando a germinação, crescimento e senescência da planta, além de retardar a senescência e abscisão de folhas e frutos. É reconhecido que o íon Ca livre atua como um regulador intracelular importante de numerosos processos bioquímicos e fisiológicos (Dechen & Nachtigall 2007).

O Ca atua no rendimento das culturas, seja agrícola ou florestal. Sua deficiência provoca o menor crescimento das raízes, tornando-as escuras e chegando a morrerem. O fato de não se retranslocar na planta desenvolve sintomas de deficiência em folhas e outros tecidos jovens. Os tecidos novos precisam de Ca para a formação de suas paredes celulares, portanto, a deficiência leva a má formação do tecido e a planta apresenta as nervuras das folhas e os pontos de crescimento de forma gelatinosa e, em casos severos, os pontos de crescimento morrem (Lopes 1998).

Não existem relatos de toxidez de Ca em plantas, devendo-se ao fato, provavelmente, ao fato de ser o excesso de Ca, pela sua baixa mobilidade, armazenado no vacúolo das células (Dechen & Nachtigall 2007).

Demanda de Ca

Os teores de Ca nas plantas variam de 5 a 80 g kg⁻¹ de matéria seca, considerando-se concentrações entre 10 e 50 g kg⁻¹ como adequadas para o crescimento normal das plantas. As plantas deficientes apresentam teores foliares menores que 4 g kg⁻¹ (Malavolta 1980; Malavolta et al. 1989; Pais & Jones Junior 1996; Furlani 2004).

Plantios de *Eucalyptus* spp. apresentam elevada mobilização deste elemento em função do seu rápido crescimento. O acúmulo de cálcio na biomassa de plantações adultas é elevado, variando de 280 a 736 kg ha⁻¹, localizando-se principalmente na casca e na madeira (Foelkel 2006).

Segundo Malavolta et al. (1997), na análise foliar, o teor de Ca considerado adequado para o tomateiro seria em g kg⁻¹, de 14 a 18. Sousa et al. (1992) observaram que com saturação por Ca na CTC_{efetiva} menor que 50 % ocorre alta restrição no crescimento radicular do trigo.

Em cafeeiro, o Ca influi na estrutura da planta (ramagem) e no sistema radicular, podendo causar morte de gemas terminais (ponteiros) muitas vezes associada à carência de B, e o nível foliar de Ca adequado situa-se em 1,0 a 1,5 % (Matiello et al. 2005).

Em goiabeira, concentrações de Ca no solo próximo de 3,0 cmol_c dm⁻³ e de 7,5 g kg⁻¹ nas raízes estiveram associadas ao maior crescimento radicular da cultura (Prado & Natale 2004).

Mecanismos de obtenção de Ca pela planta

Os mecanismos de acesso ao Ca e de transporte são, predominantemente, interceptação radicular e fluxo de massa, necessitando de maior umidade do solo (Sousa et al. 2007). Na solução do solo, o Ca é absorvido pelas plantas na forma do cátion Ca²⁺, que apresenta raio iônico hidratado relativamente grande (0,412 nm), e sua absorção pode ser diminuída por altas concentrações de K⁺, Mg²⁺ e NH₄⁺ no meio de cultivo (Vitti et al. 2006).

O Ca absorvido é transportado no xilema e em parte no floema. Depois de transportado para as folhas, o Ca se torna imóvel. A maior parte do Ca do tecido vegetal encontra-se sob formas não-solúveis em água, como o pectato de Ca, o principal

componente da lamela média da parede celular, e sais cálcicos de baixa solubilidade, como carbonatos, sulfatos, fosfatos, silicatos, citrato, malato e oxalato (Dechen & Nachtigall 2007).

Oxalato de Ca

Oxalato de Ca (CaOx) é um biomineral produzido por plantas e fungos. No caso das plantas, a precipitação e a armazenagem de CaOx têm sido descritas na maioria dos tecidos e órgãos (Zuñiga et al. 2003). Os depósitos intracelulares geralmente estão nos vacúolos de células especializadas na formação do cristal, chamadas de idioblastos (Franceschi & Nakata 2005). Em fungos a produção de ácido oxálico, produto do metabolismo fúngico, resulta geralmente na abundante produção de cristais de CaOx na superfície das hifas e rizomorfos de fungos ectomicorrízicos (Cromack et. al. 1979; Arocena et al. 2001; Wallander et al. 2002).

O ácido oxálico é um ácido relativamente forte e o significado central às suas propriedades químicas é a capacidade do ânion oxalato para complexar metais, resultando na formação de complexos de oxalato-metal e/ou precipitação de metais insolúveis na forma oxalatos, dependendo do metal e das condições químicas (Arnott, 1995; Gadd, 1999).

Cristais em plantas são formados a partir de ácido oxálico sintetizado endogenamente e Ca a partir do ambiente (Franceschi & Nakata 2005). As plantas produzem uma grande variedade de cristais de CaOx de diferentes formas e tamanhos. A maioria dos cristais podem ser classificados em cinco categorias, com base na sua morfologia: areia, ráfide, drusa, concreções e prismática (Franceschi & Horner 1980). As funções propostas dos cristais incluem a regulação do cálcio, proteção da planta contra herbívoros e desintoxicação de alumínio e metais pesados (Franceschi & Nakata 2005; Franceschi & Horner 1980; Nakata 2003).

As funções atribuídas ao ácido oxálico produzido por fungos compreendem papéis em patogenicidade; degradação da lignina; influência na regulação do pH e favorecendo a degradação da madeira; agente do intemperismo químico na dissolução de minerais silicatados; regulação da biodisponibilidade de fosfato e sulfato; desintoxicação de metais, tais como cálcio, zinco, cobalto e cobre; e produção de energia (Guggiari et al. 2011).

As plantas e fungos também liberam ácido oxálico no solo ou em detritos para regular o pH e o balanço cátion-ânion de seu microambiente externo (Jellison et al. 1997)

ou para aumentar o intemperismo de minerais ou decomposição para a absorção de nutrientes, especialmente fósforo (Ryan et al. 2001; Arvieu et al. 2003). Ácido oxálico pode, posteriormente, se ligar a íons de Ca livres no solo, formando cristais de oxalato de Ca insolúveis (Ringbom 1963).

LITERATURA CITADA

- Arnott, H.J., 1995. Calcium oxalate in fungi. In: Khan, S.R. (Ed.), Calcium Oxalate in Biological Systems. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp.73-111.
- Arocena, J.M.; Glowa, K.R. & Massicotte, H.R., 2001. Calcium-rich hypha encrustations on *Piloderma*. *Mycorrhiza*, (10), pp.209-215.
- Arvieu, J.C., Leprince, F., Plassard, C., 2003. Release of oxalate and protons by ectomycorrhizal fungi in response to P-deficiency and calcium carbonate in nutrient solution. *Annals of Forest Science* (60), pp.815-821.
- Cromack, K. et al., 1979. Calcium oxalate accumulation and soil weathering in mats of the hypogeous fungus *Hysterangium crassum*. *Soil Biology and Biochemistry*, 11(5), pp.463-468.
- Dauer, J.M. & Perakis, S.S., 2013. Contribution of calcium oxalate to soil-exchangeable calcium. *Soil Science*, 178(12), pp.671-678.
- Dechen, A.R. & Nachtigall, G.R., 2007. Elementos requeridos à nutrição de plantas. In: Novais, R.F. et al. *Fertilidade do solo*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, pp.91-132.
- Essington M. E., 2004. *Soil and water chemistry: An integrative approach*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Fassbender, H.W., 1994. *Química de suelos: Con énfasis en suelos de America Latina*. San José, Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, 422p.
- Foelkel, C., 2006. *Eucalyptus online book*. Access under: <www.eucalytus.com.br>. Access date: 20 outubro de 2015.
- Franceschi, V.R. & Horner, H.T. Jr., 1980. Calcium oxalate crystals in plants. *Botanical Review*, (46), pp.361-427.
- Franceschi, V.R. & Nakata, P.A., 2005. Calcium oxalate in plants: Formation and Function. *Annual Review of Plant Biology*, 56(1), pp.41-71.
- Furlani, A.M.C., 2004. Nutrição mineral. In: Kerbauy, G.B. (ed). *Fisiologia vegetal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, pp.40-75.

- Gadd, G.M., 1999. Fungal production of citric and oxalic acid: importance in metal speciation, physiology and biogeochemical processes. *Advances in Microbial Physiology* (41), pp.47-92.
- Guggiari, M. et al., 2011. Experimental calcium-oxalate crystal production and dissolution by selected wood-rot fungi. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 65(6), pp.803-809.
- Huang, P.M., 1989. Feldspars, olivines, pyroxenes, and amphiboles. In: Dixon, J.B. & Weed, S.B., eds. *Minerals in soil environments*. Madison, Soil Science Society of America, pp.975-1050.
- Jellison, J. et al., 1997. The role of cations in the biodegradation of wood by the brown rot fungi. *Int. Biodeterior. Biodegradation*, (39), pp.165-179.
- Kämpf, N.; Curi, N. & Marques, J.J., 2009. Intemperismo e ocorrência de minerais no ambiente do solo. In: Melo, V. de F. & Alleoni, L.R.F. *Química e Mineralogia do Solo*, 1. ed. Viçosa, MG. SBCS, v. 1, cap. V, pp.333-379.
- Lopes, A.S., 1998. Manual internacional de fertilidade do solo. Piracicaba, Instituto da Potassa & Fosfato - POTAFOS, pp.79-85.
- Malavolta, E. et al., 1989. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Piracicaba, POTAFOS, 201p.
- Malavolta, E., 1980. Elementos de nutrição mineral de plantas. Piracicaba: Agronômica Ceres, 254p.
- Malavolta, E.; Vitti, G.C. & Oliveira, S.A. de., 1997. Avaliação do estado nutricional das plantas. 2. ed. Piracicaba, POTAFOS, 319 p.
- Matiello, J. B. et al., 2005. *Cultura de café no Brasil: Novo Manual de Recomendações*. Rio de Janeiro: MAPA/PROCAFÉ, 438 p.
- Muneer, M. & Oades, J.M., 1989a. The role of Ca-Organic interactions in soil aggregate stability. I. Laboratory studies with ^{14}C -glucose, CaCO_3 and $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. *Australian Journal of Soil Research*, (27), pp.389-99.
- Muneer, M. & Oades, J.M., 1989b. The role of Ca-Organic interactions in soil aggregate stability. II. Field studies with ^{14}C -labelled Straw, CaCO_3 and $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. *Australian Journal of Soil Research*, (27), pp.401-409.
- Nakata, P.A., 2003. Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. *Plant Science*, (164), 901-909.
- Pais, I. & Jones Junior, J.B., 1996. *The handbook of trace elements*. Boca Raton, St. Lucie Press, 223p.

- Prado, R.M. & Natale, W., 2004. Calagem na nutrição de cálcio e no desenvolvimento do sistema radicular da goiabeira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.39, (10), pp.1007-1012.
- Ringbom, A., 1963. *Complexation in Analytical Chemistry*. Interscience, New York.
- Ryan, P.R.; Delhaize, E. & Jones, D.L., 2001. Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. *Annual Review of Plant Biology*, (52), pp.527-560.
- Sanzonowicz, C.; Smyth, J. & Israel, D.W., 1998. Calcium alleviation and aluminum inhibition of soybean root extension from limed soil into acid subsurface solutions. *Journal Plant Nutrition*, (21), pp.785-804.
- Silva, I.R. et al., 2001. Differential aluminum tolerance in soybean: An evaluation of the role of organic acids. *Physiologia Plantarum*, (112), pp.200-210.
- Sousa, D.M.G.; Miranda, L.N. & Oliveira, S.A., 2007. Acidez do solo e sua correção. In: Novais, R.F. et al. eds. *Fertilidade do solo*. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, pp.205-274.
- Souza, D.M.G. et al., 1992. Sugestões para diagnose e recomendação de gesso em solos de cerrado. In: *Seminário sobre o uso de gesso na agricultura*, Uberaba. Anais. São Paulo, Instituto Brasileiro do Fósforo, pp.139-158.
- Vasconcelos, A.A., 2010. Resíduo da colheita de eucalipto e fontes de cálcio na agregação do solo e na estabilização da matéria orgânica. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 45p. (Dissertação de Mestrado)
- Vitti, G.C.; Lima, E. & Cicarone, F., 2006. Cálcio, magnésio e enxofre. In: Manlio, S.F. (Ed.). *Nutrição mineral de plantas*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, pp.299-325.
- Wallender, H.; Johansson, J. & Pallon, J., 2002. PIXEL analysis to estimate the elemental composition of ectomycorrhizal rhizomorphs grown in contact with different minerals in forest soil. *FEMS Microbiology Ecology*, (9), pp.147-156.
- Zuñiga, D. et al., 2003. Crystallochemical characterization of calcium oxalate crystals isolated from seed coat of *Phaseolus vulgaris* and leaves of *Vitis vinifera*. *Journal Plant Physiology*, (190), pp.239-245.

ARTIGO

OXALATO DE CÁLCIO E NITROGÊNIO NA MOBILIZAÇÃO DE RESERVATÓRIOS DE CÁLCIO NO SOLO PELO EUCALIPTO ⁽¹⁾

Mateus Alves dos Santos ⁽²⁾, Rafael Vasconcelos Valadares ⁽³⁾, Guilherme Luiz de Jesus ⁽⁴⁾, Ivo Ribeiro da Silva ⁽⁵⁾, Júlio César Lima Neves ⁽⁶⁾ e Maurício Dutra Costa ⁽⁷⁾

RESUMO

No Brasil, as áreas plantadas com eucalipto apresentam topografia diversa, solos de reação ácida e concentrações limitantes de nutrientes como o Ca e o N. No entanto, os plantios de eucalipto apresentam elevada aquisição desses elementos, em especial do Ca, em função do rápido crescimento. O oxalato de cálcio (CaOx) pode desempenhar papel importante nos ecossistemas florestais, mas a sua contribuição para a mobilização de compartimentos de Ca no solo é mal compreendida. O presente trabalho teve como objetivo estudar as interações entre doses de CaOx e de N-NH₄⁺ na nutrição do eucalipto cultivado em solo com teor não detectável de Ca trocável. Para tanto, mudas de eucalipto (clone AEC 144) foram cultivadas em casa de vegetação em vasos com 3,0 dm³ de solo e com os tratamentos arranjados em esquema fatorial 5 x 5, com cinco doses de Ca (0; 0,10; 0,20; 0,40 e 0,80 cmol_c dm⁻³, na forma de CaOx) e cinco doses de N (0; 25; 50; 100 e 200 mg dm⁻³, na forma de cloreto de amônio). Outros dois experimentos foram conduzidos em paralelo para avaliar a estabilidade no solo e a solubilidade em diferentes faixas de pH do CaOx. A produção de matéria seca e os conteúdos de Ca e N foram altamente dependentes do N-NH₄⁺ aplicado. A maior eficiência de utilização de Ca ocorreu no tratamento sem aplicação de Ca e na maior dose de N. O cálcio proveniente da porção de Ca não-trocável do solo foi transferido para a planta de eucalipto e essa transferência aumentou com o fornecimento crescente de N-NH₄⁺, estabilizando-se na maior dose aplicada. O acúmulo de cálcio em plantas de eucalipto é dependente da absorção de nitrogênio. A solubilização de CaOx variou de 62 a 94 % para diferentes doses do composto após 60 dias de incubação do solo. A liberação de Ca a partir do CaOx não variou em função do pH. A fertilização nitrogenada (N-NH₄⁺) promove a mobilização de reservatórios de Ca não-trocáveis pelo eucalipto cultivado em solo que não apresenta teor detectável do elemento.

Palavras-chave: Ca não-trocável, oxalato, solubilidade, amônio.

- (1) Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor a ser apresentada à Universidade Federal de Viçosa-UFV.
- (2) Mestrando em Fitotecnia, Departamento de Fitotecnia, UFV. Campus Universitário s/n CEP 36570-000, Viçosa, MG, Brasil. E-mail: mateus.vrbmg@gmail.com
- (3) Doutorando em Solos e Nutrição de Plantas, Departamento de Solos, UFV. Campus Universitário s/n CEP 36570-000, Viçosa, MG, Brasil. E-mail: rafaelvvaladares@hotmail.com
- (4) Pesquisador, Coordenação de Pesquisa e Desenvolvimento Florestal, Celulose Nipo Brasileira S/A, Rodovia BR 381, km 172, Caixa Postal 100, CEP 35196-972 - Belo Oriente, MG, Brasil. E-mail: guilherme.jesus@cenibra.com.br
- (5) Departamento de Solos, UFV, Campus Universitário s/n CEP 36570-000, Viçosa, MG, Brasil. E-mail: ivosilva@ufv.br
- (6) Departamento de Solos, UFV, Campus Universitário s/n CEP 36570-000, Viçosa, MG, Brasil. E-mail: julio_n2003@yahoo.com.br
- (7) Departamento de Microbiologia, UFV. Campus Universitário s/n CEP 36570-000, Viçosa, MG, Brasil. E-mail: mdcosta@ufv.br

ABSTRACT: CALCIUM OXALATE AND NITROGEN ON THE MOBILIZATION OF CALCIUM RESERVOIR IN SOIL BY EUCALYPT

In Brazil, the areas used for eucalypt cultivation present diverse topography, acidic soils, and limiting concentrations of nutrients, such as Ca and N. However, the eucalypt stands present high requirements for these elements, especially Ca, due to rapid plant growth. Calcium oxalate (CaOx) can play key roles in forest ecosystems, but its contribution to the mobilization of Ca compartments in the soil is still poorly understood. The objective of this work was to study the interactions between CaOx and N-NH₄⁺ doses on eucalypt nutrition grown in a soil with undetectable concentrations of exchangeable Ca. For that, eucalypt clones (AEC 144) were grown in a greenhouse in pots with 3.0 dm³ of soil and subjected to treatments arranged in a 5 x 5 factorial design corresponding to five Ca (0; 0.10; 0.20; 0.40 and 0.80 cmol_c dm⁻³ as CaOx base) and five N (0; 25; 50; 100 and 200 mg dm⁻³ as ammonium chloride) doses. Two additional experiments were conducted simultaneously to evaluate the stability of CaOx in the soil and its solubility at different pH ranges. The dry matter production and the Ca and N contents were highly dependent on the N-NH₄⁺ applied. The higher efficiency of Ca use was observed for the

treatment with no Ca application and highest N doses. The calcium from non-exchangeable fraction was transferred to the eucalypt plants and this transference increased with increasing N-NH_4^+ supply, stabilizing at the highest N dose applied. Calcium accumulation in eucalypt plants was shown to be dependent on nitrogen uptake. CaOx solubilization varied from 62 to 94 % for the different CaOx doses at 60 days of incubation. Ca release from CaOx did not vary within the pH range tested. Nitrogen fertilization (N-NH_4^+) mobilizes non-exchangeable Ca reservoirs by eucalypt cultivated in soils with no detectable content of exchangeable Ca.

Keywords: Non-exchangeable Ca, oxalate, solubility, ammonium.

INTRODUÇÃO

O eucalipto é uma espécie florestal tolerante à acidez do solo, ou seja, apresenta bom crescimento mesmo em solos com alta acidez trocável e ativa (Novais et al. 1990), sendo, portanto, dispensável a calagem com o objetivo de corrigir a acidez do solo (Barros & Novais 1999).

No Brasil, as áreas utilizadas para a cultura de eucalipto apresentam topografia diversa, solos de reação ácida, com pH inferior a 5,5 (Vale et al. 1996) e concentrações limitantes de nutrientes como o Ca, que pode até se encontrar em concentrações baixas (Ritchey et al. 1982). No entanto, os plantios de *Eucalyptus* spp. apresentam elevada mobilização deste elemento em função do seu rápido crescimento. O acúmulo de cálcio na biomassa de plantações adultas é elevado, variando de 280 a 736 kg ha⁻¹, localizando-se principalmente na casca e na madeira (Foelkel 2006).

A disponibilidade do cálcio no solo é caracterizada frequentemente como Ca trocável, que pode ser definido mecanisticamente ou operacionalmente. Mecanisticamente, Ca trocável é definido como íons hidratados de Ca^{2+} que são adsorvidos por superfícies de cargas negativas do solo, através de interações eletrostáticas e não específicas relativamente fracas (Essington 2004; Dauer & Perakis 2013). Operacionalmente, Ca trocável pode ser definido como um íon removido a partir de uma solução contendo um sal neutro, ao contrário do Ca solúvel, removido por água. Essas duas definições só são equivalentes quando o Ca alvo são cátions que não são adsorvidos especificamente nas superfícies negativas do solo e que não tenham nenhuma contribuição adicional de fonte potencial de cálcio no solo (Essington 2004).

Gonzalez et al. (2009) relataram pela primeira vez o acúmulo de Ca na forma de cristais de Oxalato de Cálcio (CaOx) nas ectomicorrizas e raízes de eucalipto, com 2,5 anos de idade, cultivado em solo com baixa disponibilidade de Ca trocável na região de Viçosa - MG, e observaram que 52,6 % das ectomicorrizas apresentaram abundante acúmulo de CaOx. Já as raízes não colonizadas apresentaram frequência de acúmulo de CaOx substancialmente mais baixa, 17,5 %, indicando que as ectomicorrizas associadas a *Eucalyptus* sp. induzem o armazenamento de Ca na forma de CaOx no sistema radicular da planta hospedeira. As maiores colonizações por fungos ectomicorrízicos foram em área de encosta que não apresentava teor detectável de Ca trocável no solo, sugerindo maior dependência das plantas de eucalipto à associação micorrízica nessa condição (Gonzalez et al. 2009).

A constituição de reservatórios de Ca na raiz na forma de CaOx, induzida pela colonização por FEM, sugere papel importante desses microrganismos no suprimento de Ca para o eucalipto (Gonzalez et al. 2009), especialmente durante a etapa de maior crescimento da planta, quando a demanda pelo elemento é alta e sua disponibilidade no solo é baixa (Ritchey et al. 1982; Barros & Novais 1996). A simbiose ectomicorrízica surgiu possivelmente como resultado de uma adaptação da planta a condições de baixa disponibilidade de nutrientes (Wallander et al. 1997; Lapeyrie et al. 1990).

A estrutura cristalina e as propriedades químicas do oxalato de cálcio sugerem que é improvável sua contribuição para o Ca trocável no solo. Cristais de oxalato de Ca não têm cargas, não havendo, assim, ligação eletrostática com a superfície negativa do solo (Cromack et al. 1979). Desta forma, oxalato de Ca não se encaixa na definição mecanicista de Ca trocável. O cristal de oxalato de Ca é pouco provável que seja absorvido pelas raízes das plantas por causa de seu grande tamanho, bem como a difícil difusão na solução do solo (Dauer & Perakis 2013).

Dauer & Perakis (2014) afirmaram que o oxalato de cálcio pode desempenhar um papel importante no ecossistema florestal, mas a sua contribuição para compartimentos de Ca em florestas é mal compreendida e sugerem que o CaOx é mais importante para sustentar suprimentos de Ca em florestas onde esse nutriente é relativamente escasso. A solubilidade do CaOx é altamente dependente do pH (Gadd 1999), e o pH do solo pode regular sua solubilidade (Cromack et al. 1979; Bailey et al. 2003), podendo contribuir para o aumento nos teores de Ca trocável do solo.

Diante do exposto acima, os objetivos deste estudo foram: (1) estudar o papel do oxalato de Ca no fornecimento de Ca para a planta de eucalipto, cultivada em solo que

não apresenta teor detectável deste elemento, em função de doses crescentes de nitrogênio (N-NH_4^+); (2) avaliar a estabilidade do oxalato de cálcio incubado com solo com teor não detectável de Ca trocável; e (3) determinar a solubilidade do oxalato de cálcio em diferentes faixas de pH.

MATERIAL E MÉTODOS

Conduziram-se três experimentos: o primeiro em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Microbiologia; o segundo e o terceiro, no Laboratório de Isótopos Estáveis, pertencente ao Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa. As mudas de eucalipto utilizadas no primeiro experimento foram produzidas por mini-estadia pelo Viveiro CLONAR Engenharia e Empreendimentos Florestais Ltda., localizado em São Geraldo MG. O clone empregado foi o AEC 144®, sendo este híbrido entre as espécies *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis* (*Eucalyptus urograndis*).

Experimento I

Mudas clonais de eucalipto (clone AEC 144®) com 20-25 dias de idade foram mantidas nos tubetes originais em casa de vegetação e, após sete dias de aclimação, foram transferidas para vasos plásticos com 3,0 dm³ de solo, sendo cultivadas por 60 dias.

Os tratamentos foram arranjos em esquema fatorial (5 x 5), consistindo de cinco doses de Ca, 0; 0,10; 0,20; 0,40 e 0,80 cmol_c dm⁻³, correspondentes a 0; 20; 40; 80 e 160 mg dm⁻³ de Ca aplicados na forma de oxalato de cálcio monohidratado (PM: 146,12 g mol⁻¹), e cinco doses de nitrogênio, 0; 25; 50; 100 e 200 mg dm⁻³ de N, aplicados na forma de cloreto de amônio (PM: 53,49 g mol⁻¹). Os tratamentos foram dispostos em um delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, totalizando 100 unidades experimentais.

O solo utilizado no experimento foi coletado do horizonte B, na camada de 100-200 cm de profundidade, de um Latossolo Vermelho Amarelo localizado em Viçosa, MG (X: 721.061 E; Y: 7.702.406 S, coordenada central em UTM). Este solo foi seco ao ar, destorroado, homogeneizado e passado em peneira com malha de 4 mm. A adubação química do experimento foi realizada de acordo com a metodologia para ensaio em vasos proposta por Novais et al. (1991), exceto para os macronutrientes Mg (40 mg kg⁻¹), N e Ca, que foram as fontes de variação testadas. As doses de Ca foram aplicadas ao solo e homogeneizadas de uma só vez e as dos outros nutrientes foram parceladas em seis

adubações. O solo do experimento possui as seguintes características físicas e químicas apresentadas na tabela 1.

Tabela 1. Características do solo utilizado nos experimentos.

pH ⁽¹⁾	pH ⁽²⁾	Ca Trocável ⁽³⁾	NT ⁽⁴⁾	Matéria Orgânica ⁽⁵⁾	Textura (%) 100-200 cm ⁽⁶⁾			Classificação Textural ⁽⁷⁾
KCl	H ₂ O	cmolc dm ⁻³	dag kg ⁻¹	dag kg ⁻¹	Argila	Silte	Areia	
4,9	5,0	0,0	0,09	1,55	68	5	27	Muito argilosa

^{1,2} Defelipo & Ribeiro (1997); ³ AOAC (1975); ⁴ Bremner & Mulvaney (1982); ^{5,6,7} Embrapa (1997).

Coleta, separação e análises das amostras de planta e solo

Aos 60 dias de condução do experimento, as plantas foram colhidas, separadas em folhas, galho mais caule e raiz. As amostras foram secas em estufa de circulação forçada a 65 °C. Depois de secas, foram pesadas e moídas separadamente em moinho tipo Wiley equipado com peneira de 1 mm. Subamostras foram submetidas à digestão nítrico-perclórica na proporção 4:1 v/v, segundo método descrito por Malavolta et al. (1989) e, posteriormente, determinados os teores de Ca por espectrofotometria de absorção atômica (AOAC 1975) e N, após digestão em ácido sulfúrico concentrado, quantificado pelo método Kjeldahl (Bremner & Mulvaney 1982). A eficiência de utilização dos nutrientes Ca e N foi determinada dividindo-se o quadrado da massa seca total pelo conteúdo de Ca e N, conforme equação proposta por Siddiqi & Glass (1981).

Amostras de solo de cada vaso plástico foram coletadas ao fim do experimento, secas ao ar e homogeneizadas, retirando-se possíveis impurezas, e, posteriormente, subamostras foram analisadas para determinação de pH em água, na relação solo:solução de 1:2,5; Ca trocável, extraído com KCl 1 mol L⁻¹, na relação solo:extrator de 1:10 v/v, de acordo com Defelipo & Ribeiro (1997). O teor de cálcio foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica (AOAC 1975). O carbono orgânico foi obtido por oxidação pelo método Walkley & Black (Embrapa, 1997) e a matéria orgânica multiplicando-se o carbono orgânico por 1,724.

O Ca trocável mais a porção de Ca não-trocável do solo nos tratamentos sem aplicação de Ca na forma de oxalato de cálcio e com doses crescentes de N-NH₄⁺ foi determinado segundo a metodologia proposta por Raij et al. (1982) com modificações: a mistura de solo e extrator HCl 0,5 mol L⁻¹, na proporção 1:10 (v/v), foi aquecida até fervura. Após completar o volume para 100 mL e filtragem lenta, a concentração de Ca no extrato foi determinada por espectrofotometria de absorção atômica (AOAC 1975).

Cálcio do sistema solo-planta presente na planta (θCa)

A porcentagem de cálcio do sistema solo-planta presente na planta de eucalipto (θCa , %) aos 60 dias de experimento nos tratamentos sem aplicação de cálcio e com doses crescentes de nitrogênio (0; 25; 50; 100 e 200 mg dm⁻³ de N-NH₄⁺) foi determinada por meio da seguinte equação:

$$\theta Ca = 100 * \frac{Ca_{planta}}{Ca_{planta} + (Ca_{trocável} + Ca_{não-trocável})} \quad \text{eq. 1}$$

Em que:

- I. Ca_{planta} = conteúdo de cálcio absorvido pelas plantas (mg) nos tratamentos com dose zero de cálcio e doses crescentes de nitrogênio aos 60 dias de experimento;
- II. $Ca_{trocável} + Ca_{não-trocável}$ = conteúdo de cálcio trocável mais a porção de $Ca_{não-trocável}$ (mg) no solo dos vasos com planta nos tratamentos com dose zero de cálcio e doses crescentes de nitrogênio aos 60 dias de experimento.

Cálcio mobilizado do solo (ΔCa)

O cálcio não-trocável mobilizado do solo (ΔCa , mg) pelas plantas de eucalipto nos tratamentos sem aplicação de cálcio e doses crescentes de nitrogênio (0; 25; 50; 100 e 200 mg dm⁻³ de N-NH₄⁺) foi determinado através da equação 2:

$$\Delta Ca = (Ca_{trocável} + Ca_{planta})_{ti} - Ca_{trocável}_{ts/p} \quad \text{eq. 2}$$

Em que:

- I. $Ca_{trocável}$ = conteúdo de cálcio trocável (mg) no solo dos vasos com planta nos tratamentos com dose zero de cálcio e doses crescentes de nitrogênio aos 60 dias de experimento;
- II. Ca_{planta} = conteúdo de cálcio absorvido pelas plantas (mg) nos tratamentos com dose zero de cálcio e doses crescentes de nitrogênio aos 60 dias de experimento;
- III. $Ca_{trocável}_{ts/p}$ = conteúdo de cálcio trocável (mg) do solo sem planta no início do experimento.

Experimento II

O solo utilizado no primeiro experimento foi incubado em sala climatizada por 60 dias com doses crescentes de cálcio - 0; 0,10; 0,20; 0,40 e 0,80 $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$, que correspondem a: 0; 20; 40; 80 e 160 mg dm^{-3} de Ca - aplicadas na forma de oxalato de cálcio monohidratado (PM: 146,12 g mol^{-1}). As determinações de pH em KCl, água e Ca trocável do solo foram realizadas em seis tempos de incubação - 5, 10, 15, 30, 45 e 60 dias. O tempo zero foi considerado com os resultados já obtidos na análise inicial feita no solo do experimento (Tabela 1). Os tratamentos foram dispostos em um delineamento inteiramente casualizado com três repetições, totalizando noventa unidades experimentais.

Os tratamentos foram acondicionados em sacos plásticos de 200 mL, adicionando-se 100 g (0,1 dm^3) de solo com umidade elevada para 60% da capacidade de campo. Os sacos foram mantidos abertos para liberação de CO_2 e manutenção da reação da fonte de cálcio com o solo. A umidade foi mantida por meio de pesagens semanais.

Procedimentos e análises das amostras de solo

Ao fim de cada tempo de incubação, as amostras de solo de cada tratamento foram transferidas para latas de alumínio e secas em estufa de circulação forçada a 65 °C por 24 h. Posteriormente, subamostras foram retiradas para determinação de pH em água, na relação solo:solução de 1:2,5; Ca trocável, extraído com KCl 1 mol L^{-1} , na relação solo:extrator de 1:10 v/v; pH em KCl, de acordo com Defelipo & Ribeiro (1997). O teor de cálcio foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica (AOAC 1975).

Experimento III

O mesmo solo utilizado nos experimentos I e II (Tabela 1) foi tratado e homogeneizado com três doses crescentes de cálcio - 0; 0,40 e 0,80 $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$, que correspondem a: 0; 80 e 160 mg dm^{-3} de Ca - aplicadas na forma de oxalato de cálcio monohidratado (PM: 146,12 g mol^{-1}).

Em frascos erlenmeyer com 5 cm^3 de solo tratado com cada dose de Ca foram adicionados 50 mL (1:10 v/v) da solução tampão acetato de sódio - ácido acético 0,2 mol L^{-1} (pH 3,7 - 5,6), em cinco faixas crescentes de pH tampão - 3,7; 4,0; 4,4; 5,0 e 5,4 - sendo após levados a agitação em agitador horizontal por 1 h à 120 rpm, com temperatura mantida a 25 °C. Os tratamentos foram dispostos em um delineamento inteiramente casualizado com três repetições, totalizando quarenta e cinco unidades experimentais.

Após agitação, os frascos permaneceram de 20-30 minutos em descanso e, posteriormente, após filtração lenta, o pH dos extratos foi aferido e 0,5 mL de alíquota foi transferido para tubos de ensaio e, em seguida, adicionados 10 mL de solução de SrCl_2 (1.600 mg L^{-1} Sr). Após agitação, o teor de cálcio foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica (AOAC 1975).

Análises estatísticas

Os dados obtidos nos três experimentos foram processados no software R Studio®, pacote ExpDes, sendo submetidos a análise de variância (teste F; $p < 0,05$) e obtendo-se os modelos ajustados (teste t; $p < 0,1$). Para dois fatores testados significativos ou que tiveram interação significativa, foram geradas superfícies de resposta no software SigmaPlot® 10. Curvas de resposta foram geradas no caso de apenas um fator significativo.

RESULTADOS

Experimento I

Produção de matéria seca de planta

Durante a condução do experimento, verificou-se, em todos os tratamentos, a formação irregular do limbo foliar dos novos brotos, caracterizando deficiência inicial de cálcio. Esse sintoma de deficiência permaneceu até os 25-30 dias de condução do experimento, tendo as plantas recuperando seu crescimento normal a partir desse período. Foi verificado, também, no início do experimento, em algumas plantas de alguns tratamentos, a morte da gema apical e das gemas terminais de ramos laterais, todos apresentando escurecimento.

A produção de matéria seca das plantas de eucalipto foi mínima nos tratamentos com dose zero de nitrogênio e doses crescentes de cálcio aplicadas na forma de oxalato de cálcio (Figura 1). Com o aumento das doses de N a produção de matéria seca aumentou, independentemente da dose de Ca aplicada, demonstrando que a produção de matéria seca pela planta de eucalipto foi altamente dependente do N-NH_4^+ aplicado e pouco dependente da dose de Ca. A produção máxima de matéria seca ocorreu nas doses de 0,40 $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ (80 mg dm^{-3}) de Ca e 200 mg dm^{-3} de N (Figura 1).

A produção de matéria seca nos tratamentos com dose zero de Ca e doses crescentes de N foi, praticamente, similar aos tratamentos que receberam cálcio,

independentemente da dose aplicada. Esse resultado sugere de início que houve acesso a reservatórios de cálcio não-trocáveis pela planta de eucalipto, devido a necessidade do elemento para o crescimento celular e visto que o solo utilizado neste estudo não apresentou teor detectável de Ca trocável pelo método KCl 1 mol L⁻¹ (Tabela 1).

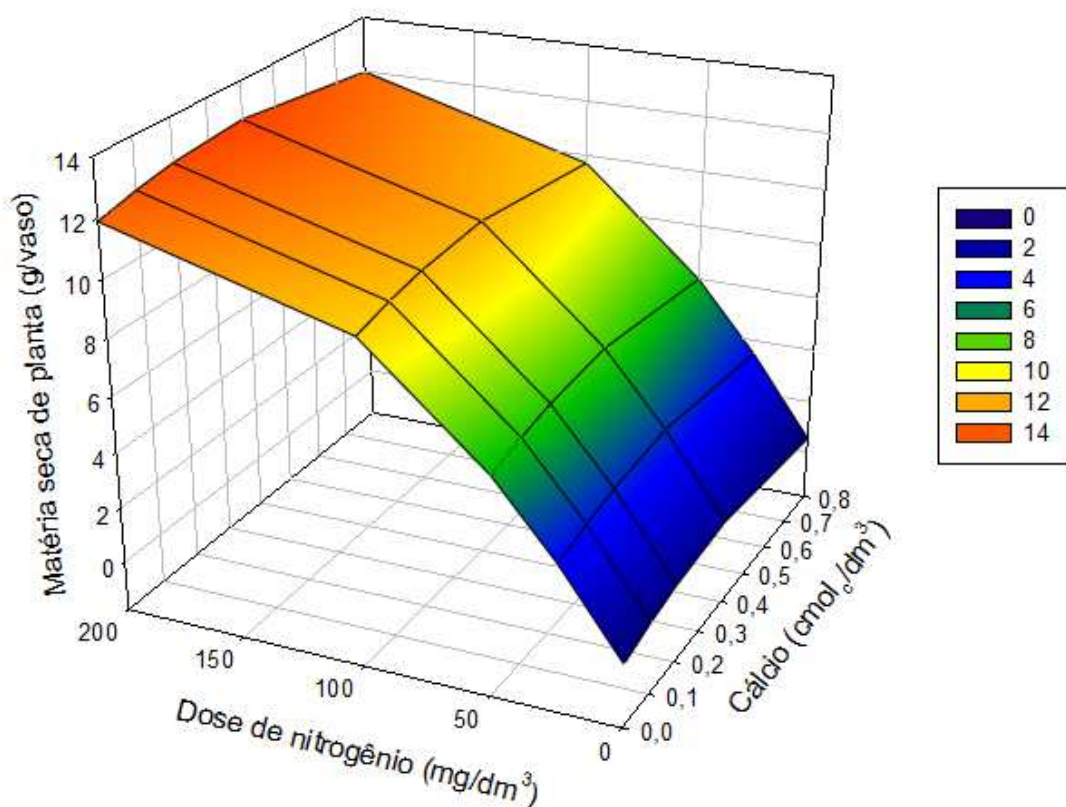


Figura 1. Produção de matéria seca de planta de eucalipto em função das doses de N e Ca aos 60 dias de experimento. $\hat{y} = 0,4712308 + 3,691563^{\circ}\text{Ca} + 0,1260531^{**}\text{N} - 4,492804^{\circ}\text{Ca}^2 - 0,0003444804^{**}\text{N}^2$; $R^2 = 0,975$. **, °: significativo a 1 e 10 %, respectivamente, pelo teste t.

Conteúdo de cálcio na planta

O acúmulo de cálcio nas plantas de eucalipto na dose zero de nitrogênio e com doses crescentes de cálcio foi significativo, mas mínimo. Foi possível verificar interação significativa entre N-NH₄⁺ e Ca, pois o aumento no fornecimento das doses de ambos resultou em aumentos significativos do conteúdo de cálcio nas plantas. Esse resultado evidencia que a absorção de nitrogênio é determinante para o acúmulo de cálcio no eucalipto (Figura 2).

Nos tratamentos sem aplicação de cálcio, as doses crescentes de nitrogênio levaram a aumentos significativos no conteúdo de Ca nas plantas de eucalipto que foram cultivadas por 60 dias em solo que não apresentava teor detectável desse elemento (Tabela

1). O acúmulo de Ca nessa condição e na maior dose de N-NH_4^+ aplicada correspondeu a 53 % (33,74 mg) dos 63,62 mg acumulados no tratamento com as maiores doses fornecidas de N-NH_4^+ (200 mg dm^{-3}) e Ca (160 mg dm^{-3}). Este resultado é importante e indica que a aplicação de N na forma amoniacal leva a planta de eucalipto a acessar reservatórios de Ca não-trocáveis do solo.

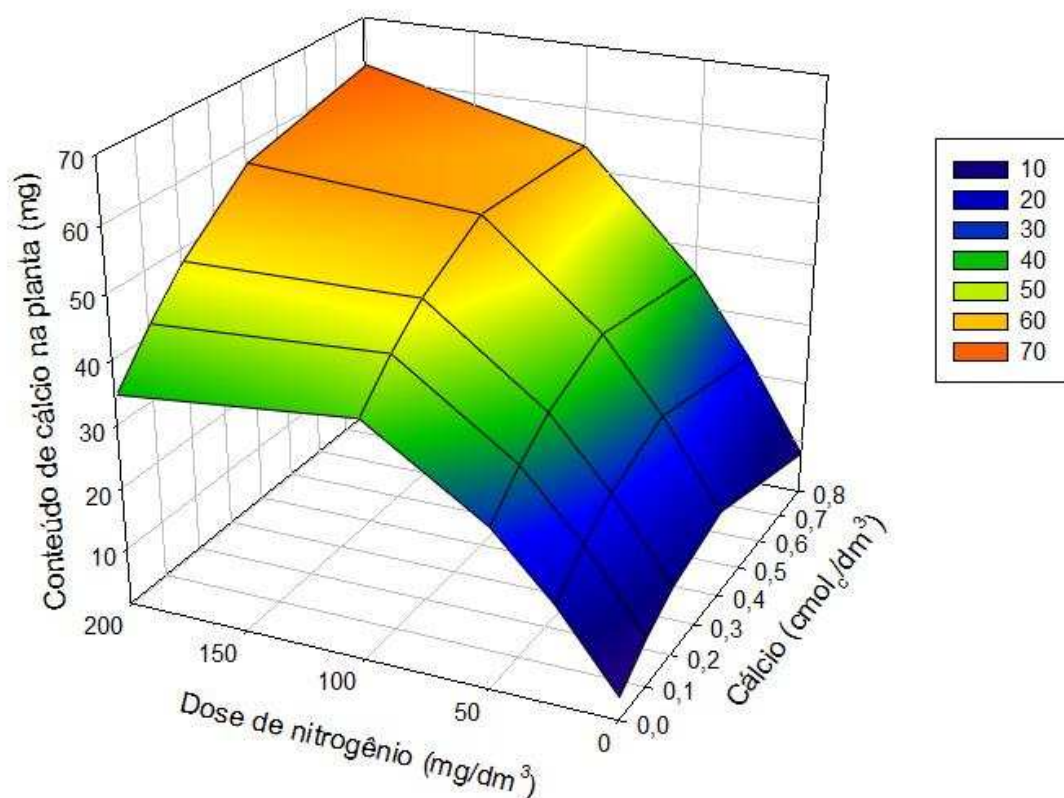


Figura 2. Conteúdo de cálcio na planta de eucalipto em função das doses de N e Ca aos 60 dias de experimento. $\hat{y} = 4,636411 + 47,71132^{**}\text{Ca} + 0,5273229^{**}\text{N} - 54,76774^{**}\text{Ca}^2 - 0,001883109^{**}\text{N}^2 + 0,1523875^{**}\text{CaN}$; $R^2 = 0,959$. **: significativo a 1 % pelo teste t.

Conteúdo de nitrogênio na planta

O conteúdo de cálcio nas plantas de eucalipto foi dependente da absorção de nitrogênio no presente estudo (Figura 2), mas, de forma diferente, o conteúdo de nitrogênio nas plantas não foi influenciado pelas doses de cálcio aplicadas. O aumento no conteúdo de nitrogênio na planta foi significativamente proporcional às doses de N-NH_4^+ aplicadas (Figura 3).

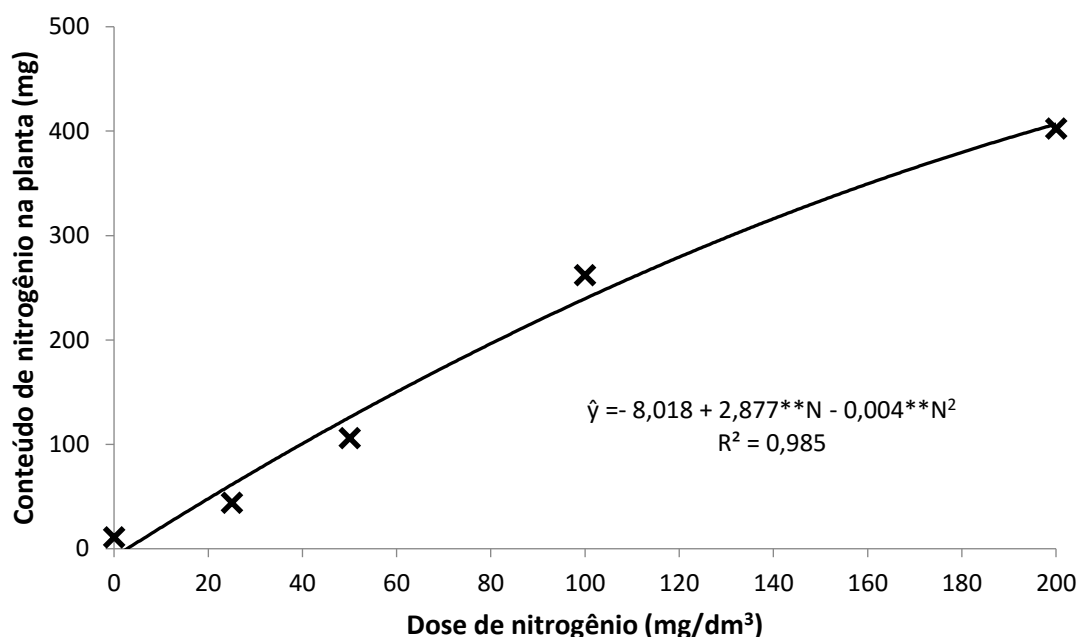


Figura 3. Conteúdo de nitrogênio na planta de eucalipto em função das doses de N aos 60 dias de experimento. **: significativo a 1 % pelo teste t.

Eficiência de utilização de Ca e N

O fornecimento crescente de $N-NH_4^+$ promoveu aumentos significativos na eficiência de utilização de cálcio pela planta de eucalipto, o que não ocorreu nos tratamentos com apenas fornecimento crescente de Ca. O fornecimento de ambos nutrientes teve interação significativa, com tendência de redução na eficiência de utilização do elemento quando houve a aplicação crescente de Ca no solo (Figura 4).

A maior eficiência de utilização de cálcio ocorreu nas doses de $0 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ de Ca e 200 mg dm^{-3} de N. É importante ressaltar que neste tratamento, além da planta acumular 53 % de Ca em relação ao melhor tratamento, a produção de matéria seca foi semelhante aos tratamentos com maiores doses de $N-NH_4^+$ e Ca (Figura 1). Esse resultado é importante e demonstra a dependência de nitrogênio ($N-NH_4^+$) pela planta de eucalipto para ser eficiente na absorção de Ca e produzir matéria seca em condição de baixa disponibilidade deste elemento no solo.

A eficiência de utilização de nitrogênio pela planta de eucalipto aumentou significativamente até o fornecimento da dose de 100 mg dm^{-3} de N e, de maneira geral, reduziu com o fornecimento da maior dose de N (200 mg dm^{-3}), independentemente da dose de Ca aplicada. A eficiência máxima de utilização ocorreu nas doses de $0,40 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ (80 mg dm^{-3}) de Ca e 100 mg dm^{-3} de N (Figura 5).

Portanto, o nitrogênio (N-NH_4^+) teve importância significativa para a planta de eucalipto absorver Ca e produzir matéria seca em condição de solo que não apresentou teor detectável de Ca trocável.

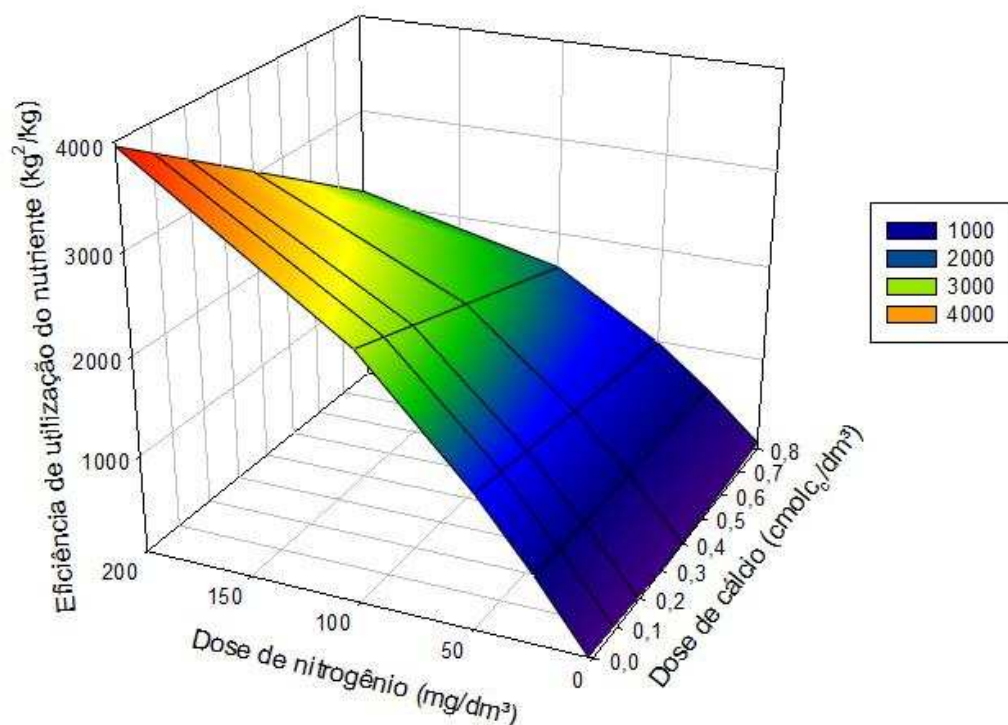


Figura 4. Eficiência de utilização de cálcio pela planta de eucalipto em função das doses de N e Ca aos 60 dias de experimento. $\hat{y} = -50,9215 + 156,50635\text{Ca} + 30,67634^{**}\text{N} - 0,05322^{**}\text{N}^2 - 12,26836^{**}\text{CaN}$; $R^2 = 0,953$. **: significativo a 1 % pelo teste t.

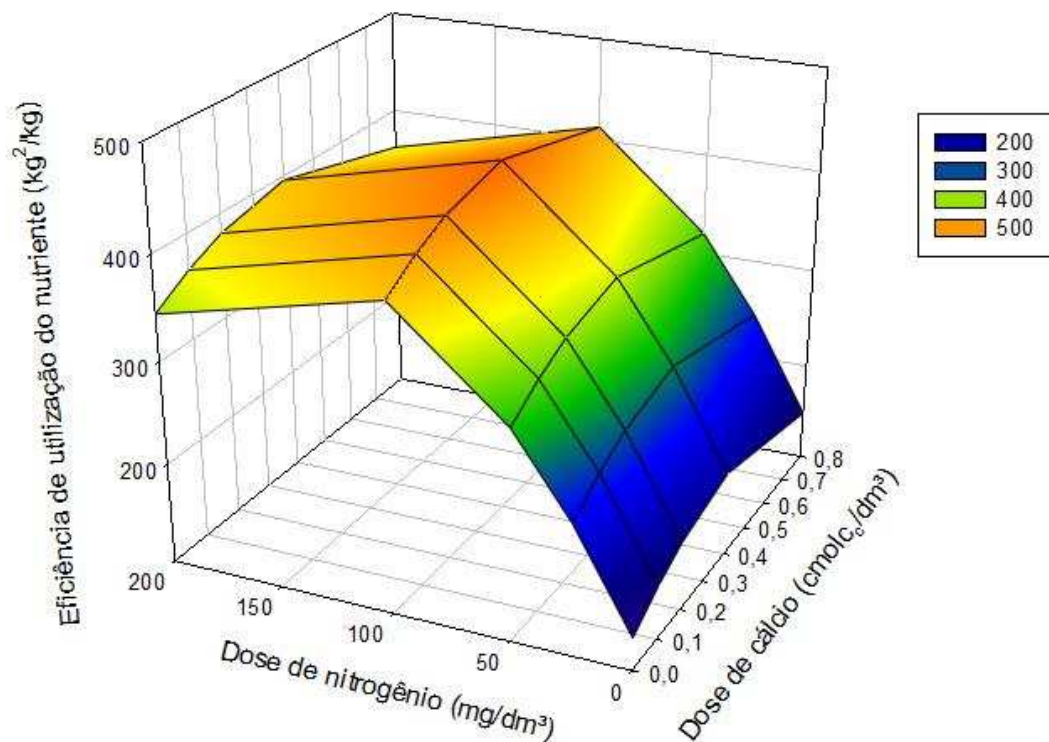


Figura 5. Eficiência de utilização de nitrogênio pela planta de eucalipto em função das doses de N e Ca aos 60 dias de experimento. $\hat{y} = 1,329 \times 10^2 + 2,347 \times 10^{20}\text{Ca} + 4,211^\circ\text{N} - 2,682 \times 10^{20}\text{Ca}^2 - 1.575 \times 10^{-2**}\text{N}^2$; $R^2 = 0,838$. **, °: significativo a 1 e 10 %, respectivamente, pelo teste t.

pH do solo

O pH do solo ao final do experimento aumentou significativamente na ausência de nitrogênio e com a aplicação crescente das doses de Ca na forma de oxalato de cálcio. Com o fornecimento crescente de N na forma amoniacal houve uma redução significativa do pH, atingindo o menor valor de 4,4 (Figura 6). O processo de absorção do N-NH_4^+ pela planta de eucalipto promoveu a acidificação do meio, devido a liberação de prótons H^+ pela planta para manter o balanço eletroquímico de cargas. Essa redução no pH promoveu, possivelmente, a disponibilização do Ca adicionado ao solo na forma de oxalato de cálcio e do Ca proveniente de reservatórios não-trocáveis presentes na fração mineral ou orgânica.

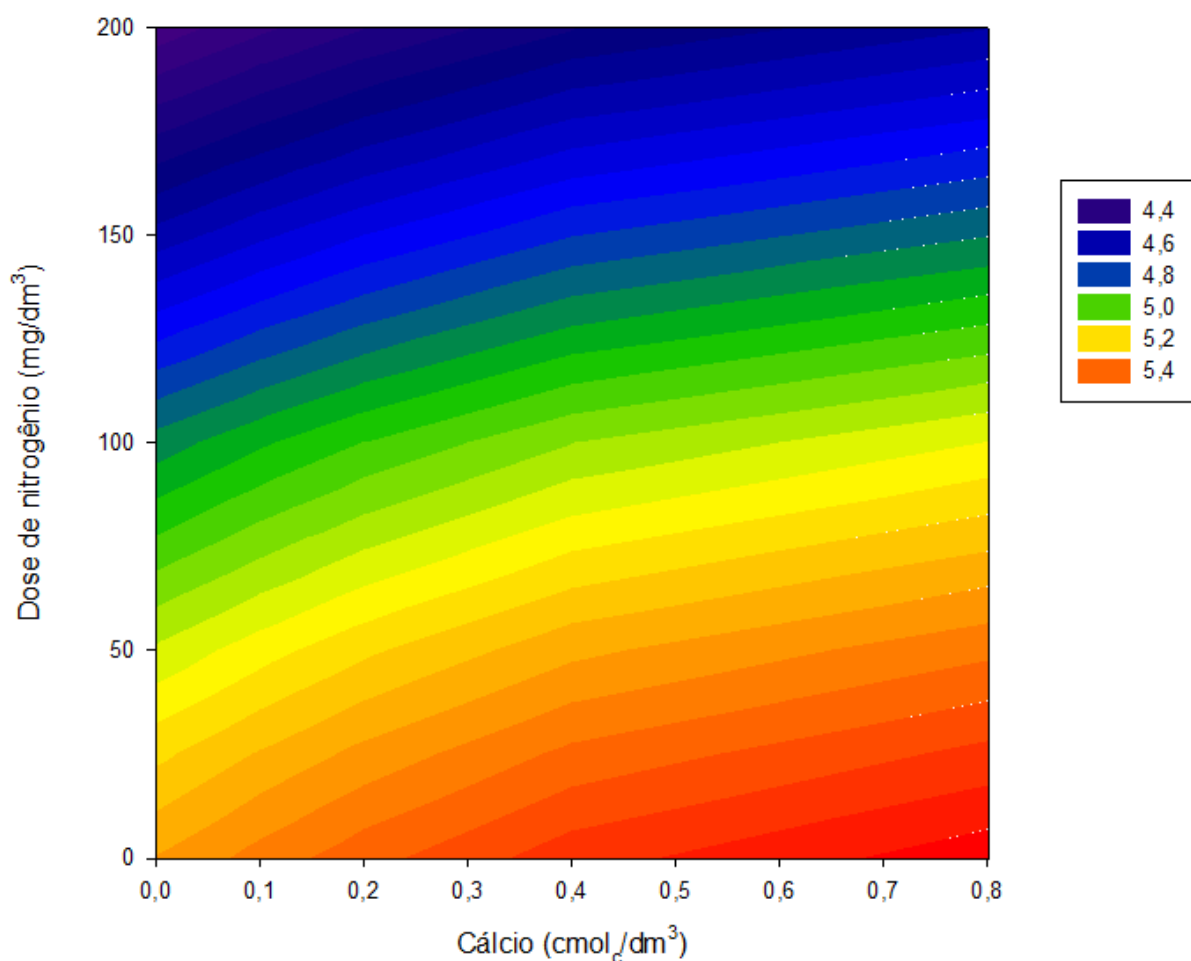


Figura 6. pH do solo em função das doses de N e Ca aos 60 dias de experimento. $\hat{y} = 5,28 + 0,5801687^{**}\text{Ca} - 0,003553092^{**}\text{N} - 0,3141439^{\circ}\text{Ca}^2 - 6,92804 \cdot 10^{-6} \cdot \text{N}^2$; $R^2 = 0,983$. **, *, °: significativo a 1; 5 e 10 %, respectivamente, pelo teste t.

Ca trocável do solo

O aumento das doses de Ca aplicadas na forma de oxalato de cálcio levou a aumentos significativos nos teores de cálcio trocável no solo, evidenciando que o oxalato de cálcio, embora pouco solúvel, pode atuar como fonte de Ca no solo (Figura 7). Sugere-se que essa desestabilização do oxalato de cálcio no solo e consequente liberação de Ca seja dependente da acidificação promovida pela absorção do N-NH_4^+ pelas plantas de eucalipto.

Nos tratamentos sem aplicação de Ca e com fornecimento crescente de nitrogênio (N-NH_4^+), o teor de Ca trocável aos 60 dias de condução do experimento foi detectável, o que não ocorreu no início do experimento. O teor, no geral, variou de 0,012 a 0,046 $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$. Esse resultado indica que a planta de eucalipto mobilizou dos reservatórios

não-trocáveis o Ca necessário para atender sua demanda, ficando um pouco de Ca livre na solução do solo, o que foi detectado na análise de rotina.

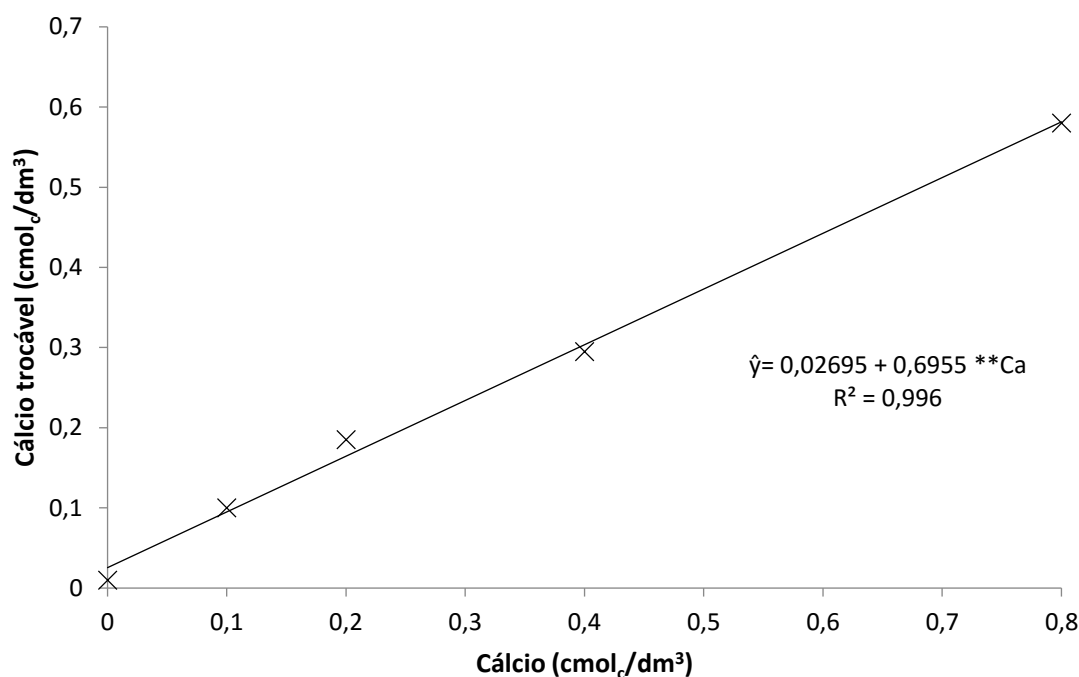


Figura 7. Cálcio trocável do solo em função das doses de Ca aos 60 dias de experimento. $\hat{y} = 0,02695 + 0,6955**Ca$; $R^2 = 0,996$. **: significativo a 1 % pelo teste t.

Matéria orgânica do solo

O teor de matéria orgânica do solo (MOS) não teve aumentos significativos nos tratamentos sem aplicação de nitrogênio e com doses crescentes de cálcio. Já nos tratamentos sem aplicação de Ca e com fornecimento crescente de N, houve uma tendência ao maior acúmulo de matéria orgânica. No entanto, o aumento das doses de Ca aplicadas provocou redução dessa variável (Figura 8). Isso pode ser explicado por haver, nessas condições, maior atividade microbiana, devido ao maior fornecimento de Ca e N, acarretando na diminuição da relação C/N e maior mineralização.

Os dados mostram que o teor de matéria orgânica neste presente estudo foi dependente das doses de nitrogênio e cálcio adicionadas, sendo afetado pela disponibilidade de N, com tendências à aumentos ou reduções nos extremos de disponibilidade, a depender do nível de Ca adicionado. Entretanto, esses dois fatores não são suficientes para explicar essa dinâmica ocorrida na matéria orgânica, visto que o coeficiente de determinação (R^2) dos dados observados foi muito baixo (0,351), existindo outros fatores que completam o entendimento dos resultados obtidos para essa variável.

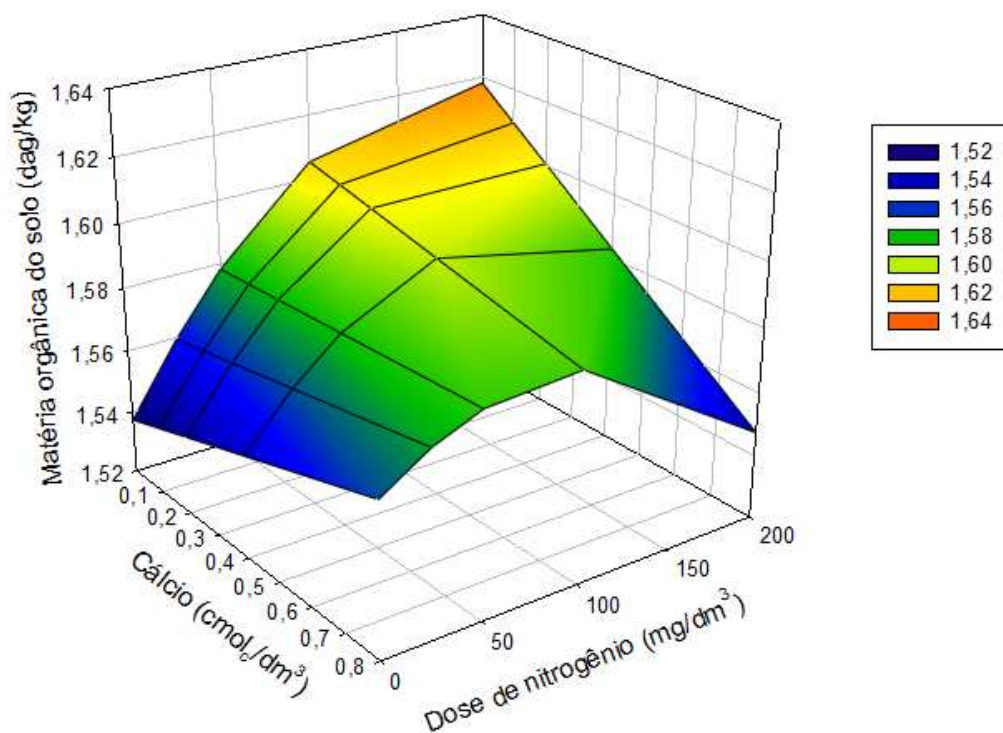


Figura 8. Teor de Matéria Orgânica do solo em função das doses de N e Ca aos 60 dias de experimento. $\hat{y} = 1,53726 + 0,03775Ca + 0,0009561067*N - 2,759305*10^{-6} N^2 - 0,00063 NCa$; $R^2 = 0,351$. *, °: significativo a 5 e 10 %, respectivamente, pelo teste t.

Cálcio do sistema solo-planta presente na planta

A porcentagem de cálcio do sistema solo-planta presente na planta de eucalipto (ΘCa) aos 60 dias de condução do experimento aumentou significativamente com o fornecimento crescente de $N-NH_4^+$ até estabilizar com o fornecimento das maiores doses de N (Figura 9). No geral, a porcentagem de Ca do sistema solo-planta presente na planta variou, em média, de 15,86 a 42,96 %. Esse resultado indica que o cálcio proveniente da porção de Ca não-trocável do solo determinada por digestão ácida foi transferido para a planta de eucalipto, e essa transferência de Ca do sistema solo teve aumentos significativos com as doses de $N-NH_4^+$ aplicadas, estabilizando no fornecimento da dose de 100 mg dm^{-3} de N e com leve tendência de decréscimo a partir daí (Figura 9).

O Ca não-trocável mobilizado do solo pode ter sido proveniente da fração mineral ou orgânica. A análise mineralógica por difração de raios x (DRX) do solo utilizado no experimento não confirmou a possível presença de minerais primários que tenham cálcio em sua composição.

O ΘCa foi determinado pela relação em porcentagem entre o Ca acumulado pela planta dividido pelo Ca do sistema solo-planta, que foi obtido pela soma do Ca acumulado pela planta mais o Ca trocável e a porção de Ca não-trocável, determinado por digestão ácida, aos 60 dias de experimento, conforme equação 1.

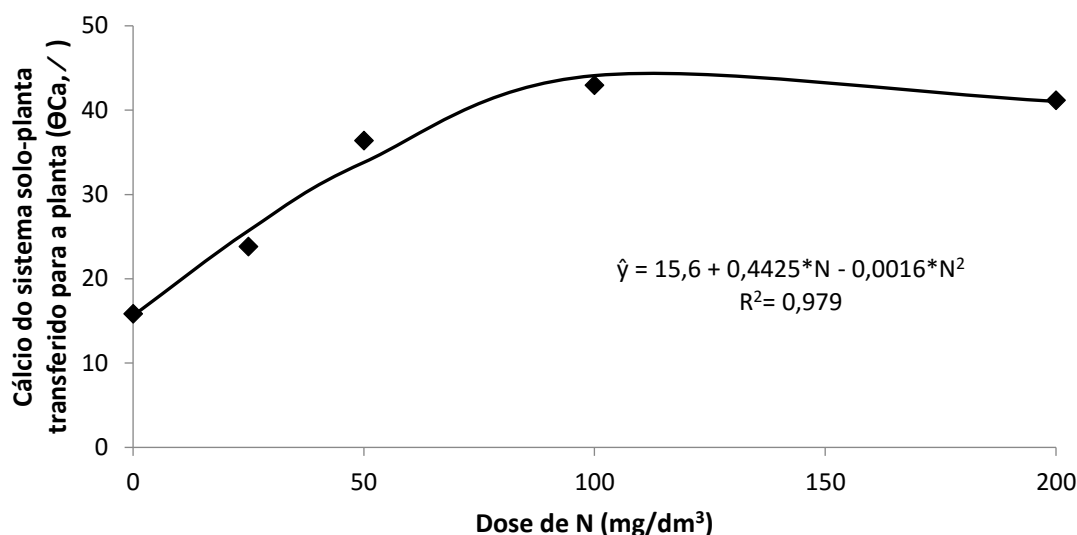


Figura 9. Porcentagem de cálcio do sistema solo-planta transferido para a planta de eucalipto em função das doses de N aos 60 dias de experimento. *: significativo a 5 % pelo teste t.

Cálcio mobilizado do solo

Nos tratamentos sem aplicação de Ca na forma de oxalato de cálcio e com doses crescentes de N aplicadas na forma de cloreto de amônio, as plantas de eucalipto tiveram produção de matéria seca semelhante aos demais tratamentos e acumularam cálcio no tecido vegetal correspondente a 53 % do acumulado no melhor tratamento. Estes resultados indicam que houve acesso a reservatórios de cálcio não-trocáveis pelas plantas, pois o solo onde foram cultivadas não apresentava teor detectável de Ca trocável (Tabela 1). O conteúdo de Ca na planta de eucalipto cultivada nessa condição é o melhor indicador que houve mobilização de reservatórios não-trocáveis de cálcio, provenientes da desestabilização da fração mineral ou orgânica.

O cálcio mobilizado do solo (ΔCa) aos 60 dias de condução do experimento aumentou significativamente com o fornecimento crescente de nitrogênio, estabilizando-se na maior dose aplicada (Figura 10). Este resultado indica e reforça que a absorção de nitrogênio (N-NH_4^+) pelo eucalipto é determinante para o acúmulo de cálcio na planta. O modelo quadrático foi o que melhor se ajustou aos valores observados.

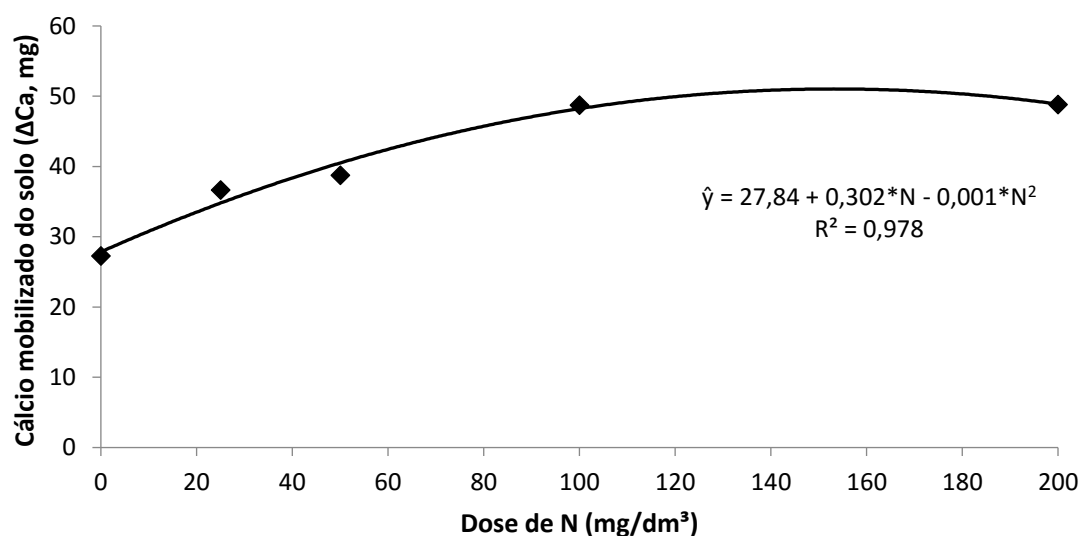


Figura 10. Cálcio mobilizado do solo em função das doses de N aos 60 dias de experimento. *: significativo a 5 % pelo teste t.

Experimento II

pH em KCl

O pH em KCl do solo utilizado no experimento I, incubado ao longo de 60 dias, aumentou com o fornecimento crescente de cálcio já aos 5 dias de incubação. Nos tratamentos sem aplicação de Ca, houve aumento significativo do pH em KCl ao longo do tempo de incubação. Os fatores tempo de incubação e doses de Ca tiveram uma interação altamente significativa, onde o aumento de ambos promoveu aumentos significativos no pH em KCl do solo (Figura 11).

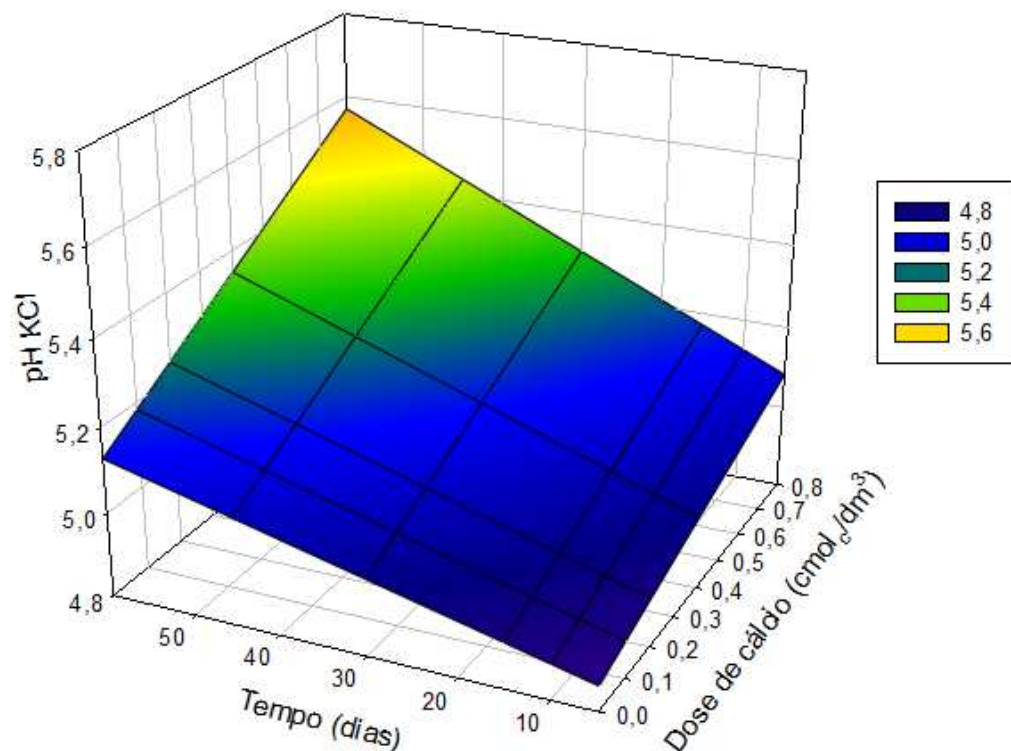


Figura 11. pH em KCl em função das doses de Ca ao longo de 60 dias de incubação. $\hat{y} = 4,834902 + 0,254902^{**}\text{Dose de cálcio} + 0,004882353^{**}\text{Tempo} + 0,004973262^{**}\text{Dose de cálcio} \times \text{Tempo}$; $R^2 = 0,929$. **: significativo a 1 % pelo teste t.

pH em H₂O

O pH em água aumentou significativamente com o aumento das doses de cálcio adicionadas já aos 5 dias de incubação. Nos tratamentos sem aplicação de Ca houve aumento significativo do pH em água ao longo do tempo de incubação (Figura 12).

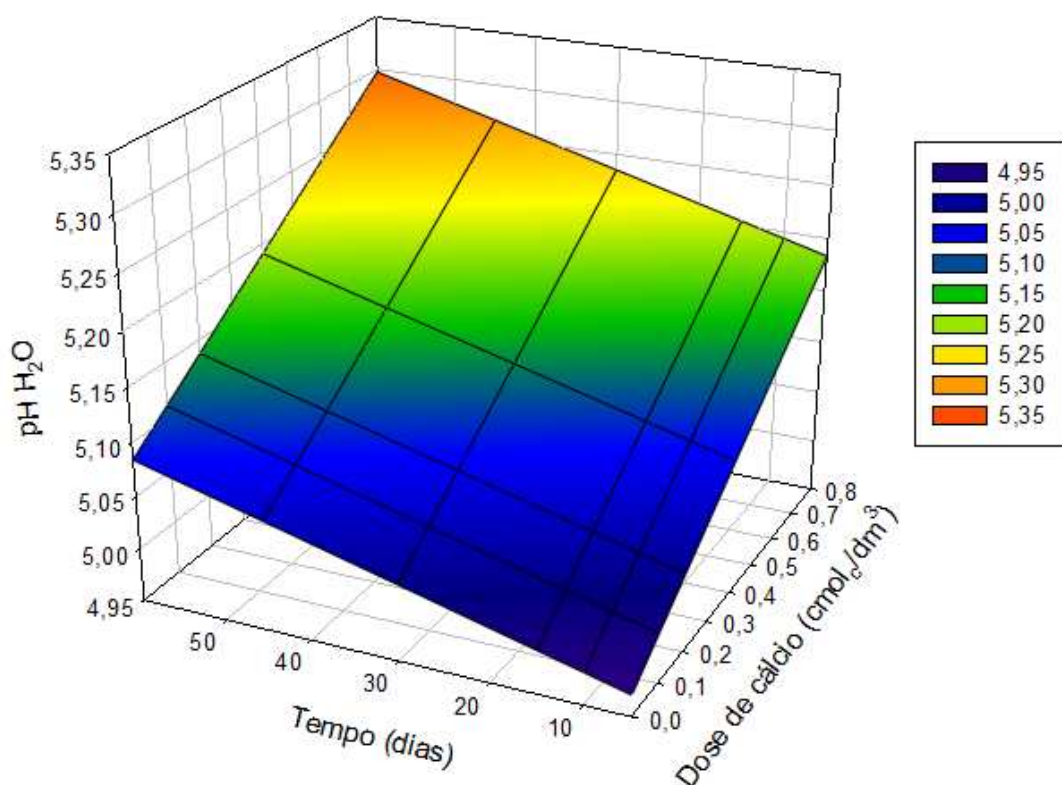


Figura 12. pH em H₂O em função das doses de Ca ao longo de 60 dias de incubação. $\hat{y} = 4,959608 + 0,2666667^{**}\text{Dose de cálcio} + 0,002074866^{**}\text{Tempo}$; $R^2 = 0,781$. **: significativo a 1 % pelo teste t.

Ca trocável do solo

O Ca trocável do solo aumentou significativamente com o aumento das doses de oxalato de cálcio, independentemente do tempo de incubação (Figura 13). Esse resultado indica que o oxalato de cálcio, embora pouco solúvel, não é estável no solo mesmo sem a presença da planta de eucalipto e sugere que a microbiota do solo atua na sua desestabilização, uma vez que também foi fornecido uma fonte de carbono, o ânion oxalato. A solubilização de CaOx variou de 62 a 94 % para diferentes doses do composto após 60 dias de incubação do solo.

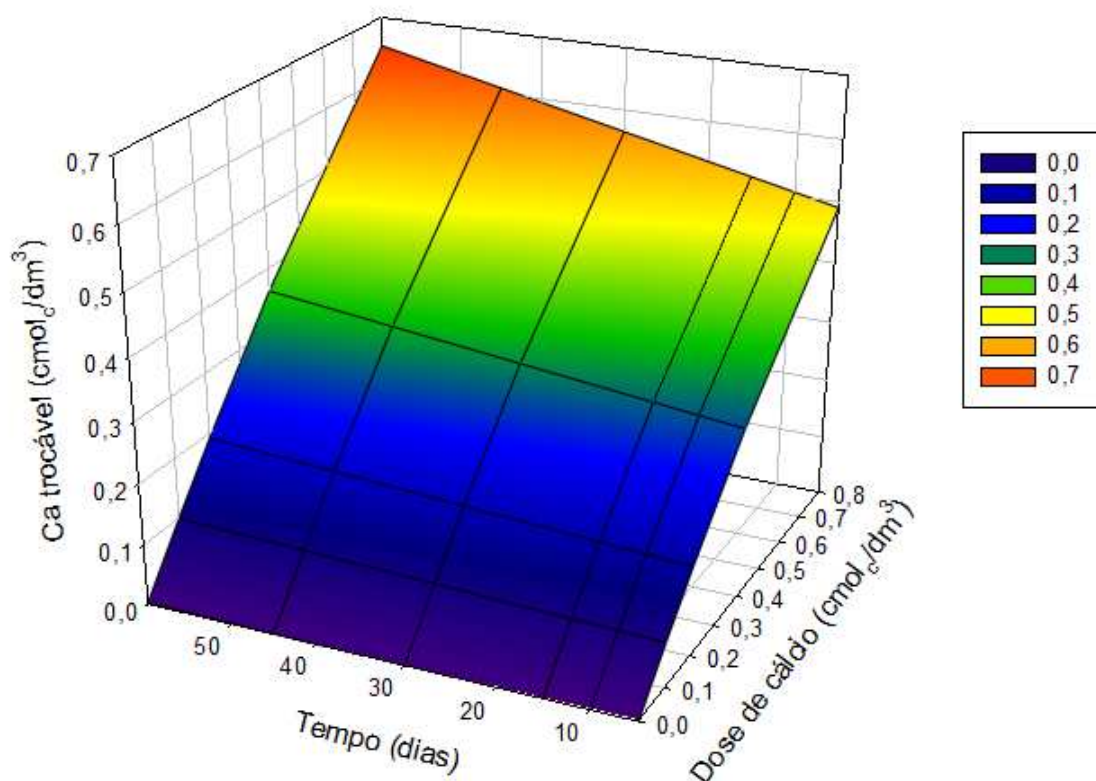


Figura 13. Cálcio trocável do solo em função das doses de Ca ao longo de 60 dias de incubação. $\hat{y} = -0,004530524 + 0,7753281^{**}\text{Dose de cálcio} + 0,0001139305\text{Tempo} - 0,2183002^{*}\text{Dose de cálcio}^2 + 0,003544652\text{Dose de cálcio} \times \text{Tempo}$; $R^2 = 0,980$. **, *: significativo a 1 e 5 %, respectivamente, pelo teste t.

Experimento III

Teor de cálcio no solo

O teor de cálcio no solo para cada dose de Ca adicionada foi o mesmo, independentemente do pH das soluções-tampão utilizadas. A concentração de $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ da solução tampão e o tempo de agitação de 1 h foram suficientes para manter o pH do extrato e disponibilizar mais de 50 % do Ca adicionado na forma de oxalato de cálcio (Figura 14). Esse resultado indica que o oxalato de cálcio teve a estabilidade afetada, mas a disponibilização de Ca foi a mesma, independentemente do pH do tampão ser mais ou menos ácido. Este resultado sugere que a disponibilização de cálcio a partir do oxalato seja semelhante tanto em ambiente rizosférico quanto no não-rizosférico.

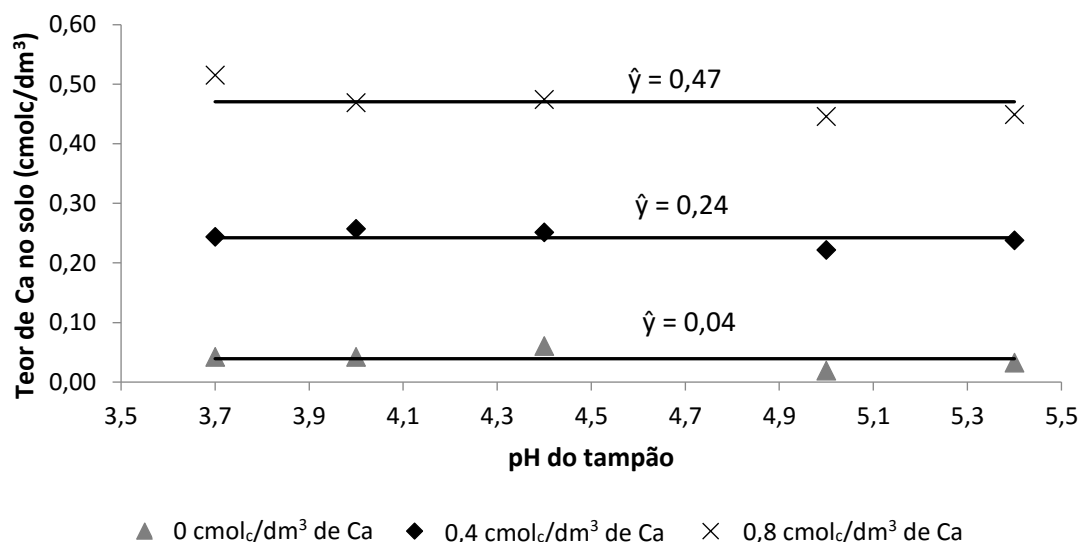


Figura 14. Teor de Cálcio no solo em função das faixas de pH da solução tampão Acetato de sódio - Ácido acético nas diferentes doses de Ca.

DISCUSSÃO

Produção de Matéria seca, conteúdo e eficiência de utilização de Ca e N

Em geral, a produção de matéria de seca de eucalipto variou de 1,09 a 13,05 g/vaso. Carmo Pinto et al. (2011) obtiveram produção média de matéria seca de 12,25 g para o clone AEC 144 cultivado em solução nutritiva por 45 dias em casa de vegetação. O fornecimento crescente de $N-NH_4^+$ foi determinante para a produção de matéria seca da planta, independentemente da dose de Ca aplicada na forma de oxalato de cálcio ($R^2 = 0,975$, $P < 0,01$; Figura 1).

Interações biogeoquímicas entre nitrogênio e cálcio são importantes e impactam na saúde e estabilidade a longo prazo dos ecossistemas florestais. O crescimento da planta é limitado pela disponibilidade de N, e aumentos moderados no seu fornecimento pode estimular o crescimento de plantas e a absorção Ca do solo (Perakis et al. 2006).

Algumas espécies de eucalipto preferem absorver N na forma amoniacal. *Eucalyptus nitens*, *E. globulus* e *E. alba* preferiram NH_4^+ do que NO_3^- em ensaios hidropônicos (Shedley et al. 1993; Barros & Novais 1996; Smethurst et al. 2004). As razões possíveis para que plantas adaptadas a solos ácidos prefiram NH_4^+ do que NO_3^- são: a assimilação de NH_4^+ é energeticamente mais eficiente do que NO_3^- ; a nitrificação é geralmente lenta em solos ácidos (Raven & Smith 1976; Runge 1981).

Neste trabalho, a produção similar de matéria seca de planta obtida no tratamento sem aplicação de Ca em comparação aos demais tratamentos indica que o fornecimento de N-NH_4^+ levou a planta de eucalipto acessar Ca de reservatórios não-trocáveis.

Rodrigues (2013) verificou que o eucalipto plantado em um solo que não recebeu aplicação de Ca e que não tinha teor detectável até 60 cm de profundidade teve um crescimento relativo de 50 %, comparado aos melhores tratamentos (calcário mais gesso), e acumulou 38 kg ha^{-1} de Ca na parte aérea, até os 18 meses de idade.

O conteúdo de Ca na planta aos 60 dias de condução do experimento variou de 9,0 a 63,62 mg. O fornecimento crescente de N-NH_4^+ levou a aumentos significativos no acúmulo de Ca pela planta de eucalipto cultivada em solo com teor não detectável do elemento ($R^2 = 0,959$, $P < 0,01$; Figura 2). A acidificação do solo promovida pela pelo fornecimento e acúmulo crescente de N-NH_4^+ ($R^2 = 0,985$, $P < 0,01$; Figura 3) e consequente liberação de prótons H^+ pelo processo de absorção de NH_4^+ pela planta de eucalipto podem ter levado à desestabilização de reservatórios de Ca não-trocáveis presentes na fração mineral ou orgânica do solo.

Matocha et al. (2016) atribuiu mudanças na mineralogia do solo ao intemperismo induzido pela acidificação gerada pela adição de fertilizantes a base de N amoniacal. Concentrações crescentes de prótons H^+ acompanhada das aplicações de N-NH_4^+ podem ter promovido um desgaste da fração mineral (Matocha et al. 2016).

A eficiência de utilização de Ca e N variaram, em geral, de 126,49 a 4.180,97 $\text{kg}^2 \text{ kg}^{-1}$ e de 149,84 a 489,77 $\text{kg}^2 \text{ kg}^{-1}$, respectivamente. Carmo Pinto et al. (2011) obtiveram eficiência de utilização média de Ca e N pelo clone AEC 144 de 1.100 e 410 $\text{kg}^2 \text{ kg}^{-1}$, respectivamente, quando cultivado em solução nutritiva por 45 dias em casa de vegetação. O fornecimento crescente de N-NH_4^+ foi determinante para a maior eficiência utilização de Ca pela planta de eucalipto, principalmente quando a disponibilidade do elemento foi baixa ($R^2 = 0,953$, $P < 0,01$; Figura 4). Já a eficiência de utilização de N aumentou até o fornecimento de 100 mg dm^{-3} de N e depois reduziu em função da maior dose, independentemente da dose de Ca aplicada ($R^2 = 0,838$, $P < 0,1$; Figura 5).

Novos estudos são necessários para avaliar alterações mineralógicas induzida pela adição de N-NH_4^+ ao longo do tempo em solos com baixo teor de Ca e presente na região rizosférica de plantas de eucalipto.

pH do solo

O pH do solo no experimento I variou de 4,4 a 5,4 ($R^2 = 0,983$; Figura 6) e foi dependente das doses de $N-NH_4^+$ ($P < 0,01$) e Ca ($P < 0,1$) aplicadas. No experimento II, em geral, no solo incubado, o pH em KCl variou de 4,9 a 5,5 ($R^2 = 0,929$, $P < 0,01$; Figura 11) e o pH em H_2O variou de 5,0 a 5,3 ($R^2 = 0,781$, $P < 0,01$; Figura 12).

No experimento I, a redução do pH pode ser atribuída a produção de prótons gerada pela absorção de NH_4^+ pela planta de eucalipto. Nas menores doses de N aplicadas e com fornecimento crescente de Ca houve uma elevação do pH, devido à maior liberação de cátions básicos Ca^{2+} em solução.

No experimento II, o pH em KCl e em H_2O aumentaram significativamente ($P < 0,01$) em função das doses de Ca aplicadas e do tempo de incubação. Nos menores tempos de incubação o pH em H_2O superou o pH em KCl, indicando predomínio de cargas negativas, fazendo o solo reter mais cátions do que ânions. No tempo de 60 dias de incubação ocorreu o contrário, indicando predomínio de cargas positivas, devido à saturação de íons Ca^{2+} em solução.

Contribuição do oxalato de cálcio para o Ca trocável do solo

Solos florestais são susceptíveis de ter concentrações de oxalato de cálcio, mas essas concentrações de oxalato de Ca cristalino raramente são quantificadas, bem como sua taxa de degradação no solo é desconhecida (Dauer & Perakis 2014). Alguns trabalhos sugerem que a liberação de Ca proveniente do oxalato de cálcio ocorra de maneira lenta, sendo importante fonte a longo prazo em regiões onde as entradas de Ca no ecossistema são relativamente baixas (Bailey et al. 2003; Smith et al. 2009; Dauer & Perakis 2014).

O Ca trocável do solo obtido no experimento I aos 60 dias de condução aumentou proporcionalmente com as doses de Ca aplicadas na forma de oxalato de cálcio ($R^2 = 0,996$, $P < 0,01$; Figura 7), sem influência alguma do fornecimento crescente das doses de $N-NH_4^+$. No experimento II, o Ca trocável do solo incubado ao longo de 60 dias também aumentou proporcionalmente com as doses de Ca aplicadas na forma de oxalato de cálcio, mas não sofreu efeito do tempo de incubação ($R^2 = 0,980$, $P < 0,01$; Figura 13).

Inicialmente, foi sugerido no experimento I, que a desestabilização do oxalato de cálcio e consequente liberação de Ca para a solução do solo foi dependente da acidificação promovida pela absorção do $N-NH_4^+$ e liberação de prótons H^+ pelas plantas de eucalipto. Especula-se que os compartimentos de oxalato de cálcio permaneçam intactos até o pH do solo diminuir (Bailey et al. 2003).

No experimento II, sugeriu-se inicialmente que a microbiota do solo atuasse na desestabilização do oxalato aplicado, pois microrganismos do solo utilizam oxalato como fonte de carbono para obtenção de energia (Verrecchia et al. 2006; Sahin 2003). Degradação microbiana de oxalato proveniente de oxalato de cálcio foi observada em taxas relativamente altas em culturas em placa de petri (Braissant et al. 2004). Adicionalmente, sugeriram que algumas espécies de fungos de podridão branca e fungos ectomicorrízicos em culturas em placa de petri também são capazes de dissolver cristais de oxalato de cálcio, especialmente quando a oferta de Ca é baixa (Tuason & Arocena 2009; Guggiari et al. 2011).

Dauer & Perakis (2013) obtiveram dissolução de oxalato de cálcio em água e em soluções salinas típicas usadas para medir Ca trocável do solo (NH_4OAc e NH_4Cl , 1 mol L^{-1}), iguais a 2, 9 e 10 %, respectivamente, quando adicionaram 500 mg L^{-1} de oxalato de Ca. Além disso, utilizando solução extratora para Ca trocável mais diluída (NH_4OAc 0,1 mol L^{-1}) obtiveram dissolução de 49% no solo com alto teor de Ca e 61% no solo com baixo teor de Ca, comparado com o extraído na solução mais concentrada (NH_4OAc 1 mol L^{-1}), sugerindo que soluções extratoras mais diluídas irão produzir substancialmente menos Ca trocável, mas sem eliminar a dissolução do oxalato de cálcio.

Esses resultados mostram que extratores salinos comuns para medir Ca trocável do solo, que normalmente é considerado disponível para absorção pelas plantas e/ou perda de lixiviação, podem liberar um pouco do oxalato de cálcio como Ca livre em solução (Dauer & Perakis 2013).

O pH do solo pode regular a solubilidade do oxalato de cálcio no solo, considerado inerte em análises químicas do solo que ocorrem a pH neutro (Cromack et al. 1979; Bailey et al. 2003), e a possibilidade nos aumentos da força iônica da solução do solo podem ser importante fator para a solubilidade do oxalato de Ca no campo (Dauer & Perakis 2013).

Nos experimentos I e II do presente estudo, o Ca trocável do solo foi obtido por extração com solução salina de KCl 1 mol L^{-1} . A solução salina utilizada pode ter favorecido a dissolução do oxalato de cálcio presente no solo, liberando Ca para a solução e, assim, superestimando o Ca trocável do solo. Com relação ao efeito de pH da solução extratora, o resultado obtido no experimento III (Figura 14) mostrou que não houve efeito de pH na dissolução do oxalato de cálcio. Novos estudos são necessários para averiguar o efeito da solução salina de KCl na dissolução de oxalato de cálcio, sugerindo ajustes na molaridade da solução extratora na determinação de Ca trocável em solos florestais. A determinação de uma solução extratora alternativa para Ca trocável do solo que exclua o

oxalato de cálcio pode ser um problema difícil, especialmente em solos com baixos teores de Ca (Dauer & Perakis 2013).

Dauer & Perakis (2014) avaliaram os padrões de acumulação de oxalato de cálcio em ecossistemas de florestas de Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) cultivadas em dois sítios com teores contrastantes de Ca trocável do solo, e encontraram que o oxalato de Ca contribui 4-5 vezes mais para o Ca total no solo com baixo teor de Ca do que no local com alto teor, apoiando a ideia de que o oxalato de Ca compreende um compartimento ecologicamente significativo de Ca disponível.

Nos três experimentos realizados foram utilizados apenas oxalato de cálcio monohidratado. É possível que o oxalato de cálcio dihidratado poderia ter um comportamento de dissolução diferente da forma monohidratada (Dauer & Perakis 2013). No entanto, a forma monohidratada é a mais comum e mais estável do que a dihidratada e é muito mais prevalente em sistemas naturais (Dana 1997; Baran & Monje 2008, Dauer & Perakis 2013), validando, dessa forma, os resultados obtidos no presente estudo.

Dinâmica da Matéria orgânica do solo

O teor de matéria orgânica do solo (MOS) variou em geral de 1,54 a 1,62 dag/kg. Nos tratamentos sem aplicação de cálcio, houve tendência de conservação e aumento da MOS com o fornecimento crescente de N-NH_4^+ ($R^2 = 0,351$, $P < 0,05$; Figura 8). Ramirez et al. (2010) verificaram que as adições de fontes de N inorgânicas reduziram significativamente a produção microbiana de CO_2 em três solos de diferentes locais por 45 dias de incubação. As alterações de pH resultante da adição de N-NH_4^+ não foram responsáveis pela diminuição nas taxas de respiração observadas no período de incubação, sendo o resultado efeito direto da adição e da concentração de N inorgânico (Ramirez et al. 2010).

Em contraste, observou-se que a adição crescente de Ca, aplicados na forma de oxalato de cálcio, juntamente com N-NH_4^+ promoveu a partir do fornecimento da dose 100 mg dm^{-3} de N uma redução no teor de MOS ($R^2 = 0,351$, $P < 0,1$; Figura 8). Isso pode ser explicado por haver, nessas condições, maior atividade microbiana, devido ao maior fornecimento de Ca e N, e pela maior demanda da planta por nutrientes em geral.

Mobilização de reservatórios de Ca não-trocáveis

A porcentagem de Ca do sistema solo-planta presente na planta de eucalipto (ΘCa) variou, em média, de 15,86 a 42,96 % ($R^2 = 0,979$, $P < 0,05$; Figura 9). O cálcio não-

trocável mobilizado do solo (ΔCa) que não apresentou teor trocável detectável do elemento no início do experimento I variou, em função das doses crescentes de N-NH_4^+ , de 27,27 a 48,84 mg ($R^2 = 0,978$, $P < 0,05$; Figura 10).

O fornecimento crescente de N-NH_4^+ pode ter promovido desgaste da fração mineral ou orgânica do solo, liberando íons Ca^{2+} para a solução e sendo absorvidos pela planta de eucalipto. O processo de acidificação do solo pode ter sido gerado pela absorção de NH_4^+ pelas plantas e consequente liberação de prótons, ou pela nitrificação do NH_4^+ fornecido ao solo.

O impacto do processo de nitrificação sobre as propriedades químicas do solo, por conseguinte, consiste em dois componentes: o efeito acidificante pela produção de H^+ , e a aceleração da lixiviação cátions associados com NO_3^- livres (Van Miegroet & Cole 1984). Níveis elevados de NH_4^+ podem levar a aumento nas taxas de nitrificação, elevando NO_3^- e a produção de prótons durante o processo (Lucas et al. 2011).

Trabalhos na literatura relacionados a mobilização de reservatórios de Ca não-trocáveis em função da fertilização nitrogenada e em ecossistemas florestais não foram encontrados. Experimentos futuros são necessários para elucidar a origem das fontes de Ca não-trocáveis mobilizados em solos com baixo teor de Ca disponível, bem como os mecanismos subjacentes à mobilização.

CONCLUSÕES

1. O acúmulo de cálcio em plantas de eucalipto é dependente da absorção de nitrogênio.
2. A fertilização nitrogenada (N-NH_4^+) promove a mobilização de reservatórios de Ca não-trocáveis pela planta de eucalipto cultivada em solo que não apresenta teor detectável do elemento.

REFERÊNCIAS

- Associations of official analytical chemists – AOAC. Official methods of analysis of the Associations of Official Analytical Chemists., 1975. 12.ed. Washington, D.C. 1024p.
- Bailey, S.W., Buso, D.C. & Likens, G.E., 2003. Implications of sodium mass balance for interpreting the calcium cycle of a forested ecosystem. *Ecology*, 84(2), pp.471-484.
- Baran E.J. & Monje P.V., 2008. Oxalate biominerals. In: *Biomineralization, from nature to application*, Vol. 4. A. Sigel, H. Sigel, R. K. O. Sigel (eds.). John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, UK.

- Barros, N.F. & Novais, R.F., 1999. Eucalipto. In: Ribeiro, A.C.; Guimarães, P.T.G.; Alvarez V., V.H. (Eds.). *Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação*. Viçosa: CFSEMG/UFV, pp.305-307.
- Barros, N.F. & Novais, R.F., 1996. Eucalypt nutrition and fertiliser regimes in Brazil. In: Attiwill, P.M., Adams, M.A. (Eds.), *Nutrition of Eucalypts*. CSIRO, Australia, pp.335-355.
- Braissant O. et al., 2004. Biologically induced mineralization in the tree *Milicia excelsa* (Moraceae): Its causes and consequences to the environment. *Geobiology*, 2:59-66.
- Bremner, J.M. & Mulvaney, C.S., 1982. Nitrogen total. In: Page, A.L. (ed.) *Methods of soil analysis. Part 2*. Madison: American Society of Agronomy, pp.595-624.
- Carmo Pinto, S.I. et al., 2011. Eficiência nutricional de clones de eucalipto na fase de mudas cultivados em solução nutritiva. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo*, 35(2), pp.523-533.
- Cromack, K. et al., 1979. Calcium oxalate accumulation and soil weathering in mats of the hypogeous fungus *Hysterangium crassum*. *Soil Biology and Biochemistry*, 11(5), pp.463-468.
- Dana's New Mineralogy: The System of Mineralogy of James Dwight Dana na Edward Salisbury Dana., 1997. Wiley, New York, NY.
- Dauer, J.M. & Perakis, S.S., 2014. Calcium oxalate contribution to calcium cycling in forests of contrasting nutrient status. *Forest Ecology and Management*, 334, pp.64-73.
- Dauer, J.M. & Perakis, S.S., 2013. Contribution of Calcium Oxalate to Soil-Exchangeable Calcium. *Soil Science*, 178(12), pp.671-678.
- Defelipo, B.V. & Ribeiro, A.C., 1997. *Análise química do solo. Metodologia*. Viçosa, UFV. Imprensa Universitária. 26p. (Boletim de Extensão 29).
- Embrapa, 1997. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). *Manual de métodos de análise de solo*. 2. ed. rev. atual. Rio de Janeiro, 212 p.
- Essington M. E., 2004. *Soil and water chemistry: An integrative approach*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Ferreira, E. B., Cavalcanti, P. P., Nogueira, D. A. (2013). *ExpDes: Experimental Designs package*. R package version 1.1.2.
- Foelkel, C., 2006. *Eucalyptus online book*. Access under: <www.eucalytus.com.br>. Access date: 20 outubro de 2015.

- Gadd G.M., 1999. Fungal production of citric and oxalic acid: importance in metal speciation, physiology and biogeochemical processes. *Advances in Microbial Physiology* (41), pp.47-92.
- Gonzalez, J.A.Z. et al., 2009. Acúmulo de ácido oxálico e cristais de cálcio em ectomicorrizas de eucalipto. II - Formação de cristais de oxalato de cálcio induzida por fungos ectomicorrízicos em raízes laterais finas. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo*, (33), pp.555-562.
- Guggiari, M. et al., 2011. Experimental calcium-oxalate crystal production and dissolution by selected wood-rot fungi. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 65(6), pp.803-809.
- Lapeyrie, F. et al., 1990. Study of intracellular and extracellular calcium oxalate accumulation by ectomycorrhizal fungi in pure culture or in association with *Eucalyptus* seedlings. *Symbiose*, (9), pp.163-166.
- Lucas, R.W. et al., 2011. A meta-analysis of the effects of nitrogen additions on base cations: Implications for plants, soils, and streams. *Forest Ecology and Management*, 262(2), pp.95-104.
- Malavolta, E. et al., 1989. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Piracicaba, POTAFOS, 201p.
- Matocha, C.J. et al., 2016. Changes in soil mineralogy due to nitrogen fertilization in an agroecosystem. *Geoderma*, 263, pp.176-184.
- Novais, R. F. et al., 1990. Nutrição Mineral do eucalipto. In: Barros, N. F. & Novais, R. F. (Eds.) *Relação solo-eucalipto*. Viçosa: Editora Folha de Viçosa, pp.25-98.
- Novais, R. F. et al., 1991. Ensaio em ambiente controlado. In: Oliveira, A. J. et al. (Coord.). *Métodos de pesquisa em fertilidade do solo*. Brasília: Embrapa-SEA, pp.189-253.
- Perakis, S.S. et al., 2006. Coupled nitrogen and calcium cycles in forests of the Oregon Coast Range. *Ecosystems*, 9(1), pp.63-74.
- Raij, B. van et al., 1982. Perdas de cálcio e magnésio durante cinco anos em ensaio de calagem. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo*, (6), pp.33-37.
- Ramirez, K.S., Craine, J.M. & Fierer, N., 2010. Nitrogen fertilization inhibits soil microbial respiration regardless of the form of nitrogen applied. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(12), pp.2336-2338.
- Raven, J. a. & Smith, F. a. a., 1976. Nitrogen assimilation and transport in vascular land plants in relation to intracellular pH regulation. *New Phytologist*, 76(3), pp.415-431.

- Ritchey, K.D. et al., 1982. Calcium deficiency in clay B horizons of savanna Oxisols. *Soil Science*, (6), pp.378-382.
- Rodrigues, F.A.V., 2013. Crescimento de eucalipto em idade jovem e movimentação de cálcio e magnésio no solo em resposta à aplicação de calcário e gesso agrícola. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 72p. (Tese de Doutorado)
- Runge, M., 1981. Physiology and ecology of nitrogen nutrition. In: *Physiological Plant Ecology III, Responses to the Chemical and Biological Environment*, Vol. 12C. Eds Lange O.L. et al. Springer-Verlag, Berlin, pp. 163-200.
- Sahin, N., 2003. Oxalotrophic bacteria. *Research in Microbiology*, 154(6), pp.399-407.
- Shedley, E. et al., 1993. Effects of inorganic nitrogen forms on growth of *Eucalyptus globulus* seedlings. In: Barrow, N.J. (Ed.), *Plant Nutrition-From Genetic Engineering to Field Practice*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 595-598.
- Siddiqi, M.Y. & Glass, A.D.M., 1981. Utilization Index: A modified approach to the estimation and comparison of nutriente utilization efficiency in plants. *Journal Plant Nutrition*, (4), pp.289-302.
- Smethurst, P. et al., 2004. Nitrogen management in *Eucalyptus nitens* plantations. *Forest Ecology and Management*, 193(1-2), pp.63-80.
- Smith, K.T. et al., 2009. Calcium fertilization increases the concentration of calcium in sapwood and calcium oxalate in foliage of red spruce. *Environmental and Experimental Botany*, 67(1), pp.277-283.
- Systat Software, Inc. SigmaPlot 10 user's manual. 2006.
- Tuason, M.M.S. & Arocena, J.M., 2009. Calcium oxalate biomineralization by *Piloderma fallax* in response to various levels of calcium and phosphorus. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(22), pp.7079-7085.
- Vale, F.R. et al., 1996. Crescimento radicular de espécies florestais em solo ácido. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 31(9), pp.609-616.
- Van Miegroet, H. & Cole, D.W., 1984. The impact of nitrification on soil acidification and cation leaching in a red alder ecosystem. *Journal of Environment Quality*, 13(4), p.586.
- Verrecchia, E. et al., 2006. The oxalate-carbonate pathway in soil carbon storage: The role of fungi and oxalotrophic bacteria. In: *Fungi in Biogeochemical Cycles*. G. M. Gadd (ed.). Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 289-310.
- Wallander, H., Wickman, T. & Jacks, G., 1997. Apatite as a P source in mycorrhizal and non-mycorrhizal *Pinus sylvestris* seedlings. *Plant and Soil*, 196(1), pp.123-131.

CONCLUSÕES GERAIS

No presente estudo, o acúmulo de cálcio em plantas de eucalipto foi dependente da absorção de nitrogênio e a fertilização nitrogenada (N-NH_4^+) promoveu a mobilização de reservatórios de Ca não-trocáveis pela planta de eucalipto que foi cultivada em solo que não apresenta teor detectável do elemento.

Trabalhos na literatura relacionados a mobilização de reservatórios de Ca não-trocáveis em função da fertilização nitrogenada e em ecossistemas florestais não foram encontrados. Experimentos futuros são necessários para elucidar a origem das fontes de Ca não-trocáveis mobilizados em solos com baixo teor de Ca disponível.

Novos estudos são necessários para avaliar alterações mineralógicas induzida pela adição de N-NH_4^+ ao longo do tempo em solos com baixo teor de Ca e presente na região rizosférica de plantas de eucalipto.

A força iônica das soluções salinas utilizadas para extrair Ca trocável pode promover a dissolução de cristais de oxalato de cálcio presentes no solo.