

CARACTERÍSTICAS FOTOSSINTÉTICAS DE PLANTAS JOVENS DE *Inga edulis* SUBMETIDAS A DIFERENTES FONTES DE NITROGÊNIO MINERAL (NH_3^+ E NO_3^-)

Cristiane Santos do Carmo Ribeiro de SOUZA¹; Carlos Eduardo Moura da SILVA²;

José Francisco de Carvalho GONÇALVES³

¹Bolsista PIBIC/CNPq/INPA; ²Orientador PCI/CNPq/INPA; ³Coorientador CPST/INPA

1. Introdução

Os nutrientes minerais obtidos pelas plantas, durante os processos de absorção e assimilação, são incorporados nos tecidos vegetais a partir de compostos de carbono necessários para o crescimento e desenvolvimento vegetal (Marschner 1995). Porém o metabolismo mineral envolve reações químicas altamente energéticas que quase sempre dependem de agentes redutores produzidos pela fotossíntese (Kerbauy 2008). Em decorrência disto, estudos envolvendo estratégia de absorção diferencial de nutrientes minerais pelas plantas merecem atenção, em especial para o nitrogênio, cuja assimilação é essencial para o metabolismo vegetal devido sua participação nas moléculas de clorofila, bases nitrogenadas, aminoácidos e proteínas. Além do mais o N está relacionado ao aumento da divisão e expansão foliar, maior área foliar e melhores respostas nas taxas fotossintéticas (Taiz e Zeiger 2008). De maneira geral, as formas minerais (NH_4^+ e NO_3^-) são as mais frequentemente usadas pelas plantas. No entanto, muitas espécies apresentam fixação simbiótica, principalmente as pertencentes à família fabaceae, conferindo, dessa forma, ingresso adicional de N no seu processo metabólico com reflexos diretos sobre o ganho de biomassa. O fato é que pouco se sabe qual a fonte disponível preferida e seu efeito sobre a incorporação de carbono no estabelecimento de plantas na fase juvenil. Assim, o objetivo geral desse estudo foi investigar as características fotossintéticas de plantas jovens de *Inga edulis* inoculadas com bactérias fixadoras e submetidas a diferentes fontes de nitrogênio mineral (NH_4^+ e NO_3^-).

2. Material e Métodos

O estudo foi conduzido em casa de vegetação e no laboratório de fisiologia e bioquímica vegetal (LFBV) no campus do INPA (3°8' S e 59°52' W). Plantas de *I. edulis* foram inoculadas com cepas de rizóbios, aclimatadas (sombrite de 75%) e irrigadas diariamente (8:00 h). Posteriormente, as mudas foram divididas nos tratamentos: controle (solução nutritiva sem adição de nitrogênio), nitrato (solução nutritiva com adição de nitrato a 5mM) e amônia (solução nutritiva com adição de amônio a 5mM). Após 106 dias foram determinados: área foliar específica (AFE), retirando-se dez discos foliares com área conhecidas e calculados pela razão da área foliar pela massa foliar seca (Witkowski e Lamont 1991); trocas gasosas, obtidas por meio de um analisador de gás infravermelho (LI-COR 6400) nos horários entre 8:00 a 12:00 h, sendo determinados as taxa de fotossíntese (A), respiração (Rd), condutância estomática (Gs) e transpiração (E) (Gonçalves *et al.* 2009); pigmentos cloroplastídicos (clorofilas *a*, *b* e carotenóides), conforme os métodos descritos por Lichtenthaler e Wellburn (1983) e Hendry e Price (1993); índice de conteúdo de clorofila (ICC) por meio de clorofilômetro portátil modelo CCM 200 Opti-Science; e fluorescência da clorofila *a*, determinada por meio de um pulso de luz saturante ($3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) após adaptação ao escuro de 30 minutos, utilizando-se fluorômetro portátil (Plant Efficiency Analyser – MK2 – 9600) para obtenção dos parâmetros referentes ao fluxo fenomenológico por seção transversal (ABS/CS , TR_0/CS , ET_0/CS , DI_0/CS e RC/CS) e índice de desempenho (IP_{abs}) (Srivastava *et al.* 1999).

3. Resultados e discussão

O tratamento com nitrato foi, aproximadamente, 33,8% menor que o tratamento controle que exibiu maior valor (Figura 1).

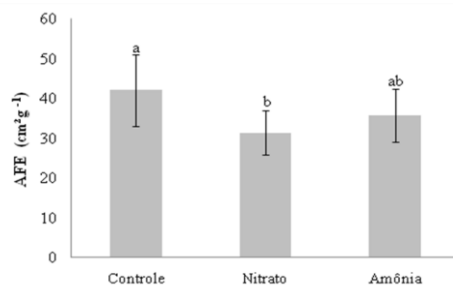


Figura 1 - Área foliar específica (AFE) em folhas jovens de *I. edulis*, submetidas a diferente fontes de nitrogênio (NH_4^+ e NO_3^-). Os valores são médias e as linhas verticais são desvios padrões. Médias seguidas pela mesma letra não difere estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O parâmetro área foliar específica (AFE) é uma característica ecofisiológica importante na alocação de biomassa em respostas a variações do ambiente, como na disponibilidade de nutrientes e água. Sua modificação interfere no processo de obtenção de energia, o que favorece mudanças na razão entre fotossíntese e respiração, com reflexos diretos sobre o acúmulo de biomassa da planta (Gyimah e Nakao 2007). Alguns estudos têm mostrado que a AFE está significativamente correlacionada à concentração de nitrogênio foliar (Franco *et al.* 2005; Araújo 2006), assimilação de carbono e produção de tecidos fotossintetizantes (Peixoto 2007). Outros estudos também têm verificado a mesma relação além de correlacionar AFE e capacidade fotossintética (Pierce *et al.* 1994). Como podemos perceber nesse estudo, o tratamento controle e amônia não diferiram significativamente para a AFE. Contudo, os menores valores de AFE exibidos no tratamento com nitrato também refletiu em baixas respostas de A (Tabela 1).

Em plantas jovens de *I. Edulis* submetidas a uma densidade de fluxo fotônico de $1000 \mu\text{mol}$ (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, verificou-se que a taxa de A para o tratamento com amônia foi o que exibiu maior valor, sendo aproximadamente 1,34 vezes maior que o tratamento com nitrato. Enquanto que para os demais parâmetros não houve diferenças significativas entre os tratamentos (tabela 1).

Tabela 1 - Taxa de fotossíntese (A), taxa de respiração no escuro (R_d), condutância estomática (g_s), transpiração (E) e eficiência do uso da água (EUA) em folhas jovens de *Inga edulis*, submetidas a dosagem de diferente fontes de nitrogênio.

Parâmetro	Tratamento		
	Controle	Nitrato	Amônia
A	$9,78 \pm 3,00$ ab	$9,48 \pm 3,20$ b	$12,73 \pm 2,51$ a
Rd	$-0,78 \pm 0,39$ a	$-0,94 \pm 0,49$ a	$-0,66 \pm 0,44$ a
gs	$0,20 \pm 0,14$ a	$0,22 \pm 0,13$ a	$0,24 \pm 0,13$ a
E	$2,85 \pm 1,37$ a	$3,15 \pm 1,18$ a	$3,35 \pm 1,31$ a
EUA	$4,27 \pm 1,40$ a	$3,43 \pm 0,64$ a	$4,63 \pm 2,08$ a

Os valores são médias \pm desvios padrões ($n = 11$). Médias seguidas pela mesma letra na horizontal não difere estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados diferentes foram observados por Barreto *et al.* (2007) em plantas jovens de *Aniba roseodora* submetidas a diferentes doses de N onde os autores verificaram que, para as taxas de A, g_s e E, as melhores respostas foram obtidas quando predominou o fornecimento de 100% de NO_3^- na solução nutritiva. No entanto, estes autores verificaram que as taxas fotossintéticas no tratamento com 100% de NH_4^+ foi maior do que os tratamentos com 25:75% $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ e 50:50% $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$. Os mesmos autores sugerem que esta espécie pode absorver também a forma amoniacal, pois plantas superiores podem absorver tanto o N na forma de nitrato quanto amônio, dependendo da quantidade e da forma de N fornecido, dependendo de cada espécie em particular (Marschner 1995). Adicionalmente, Bown *et al.* (2010) ao estudarem os efeitos das formas de N no crescimento, absorção e características fotossintéticas em mudas de *Pinus radiata* em alta irradiância, verificaram a preferência desta espécie pela forma nítrica, sugerindo que o sucesso do estabelecimento desta espécie em locais de fertilização perturbada, como por

exemplo pastagens abandonadas, é devido a grande disponibilidade de NO_3^- disponível nestes locais.

Conforme relatado por Huppe e Turpin (1994), a forma de nitrogênio fornecida afeta o consumo de NADPH e, devido à redução do NO_3^- na folha, uma parte substancial dos produtos da cadeia de transporte de elétrons pode ser usado para assimilação de NO_3^- . O custo da fotoenergia para o fornecimento de amônio é 145% menor do que para o fornecimento de nitrato. Este resultado está de acordo com nossos estudos, em que o tratamento com amônia foi a forma que obteve maior assimilação de CO_2 em relação ao com nitrato.

No que concerne a concentração de pigmentos cloroplásticos (Tabela 2), o tratamento com amônia exibiu maior valor para as variáveis clorofilas *a* e *b*, carotenóides e clorofila total.

Tabela 2 - Teores médios de clorofila *a* (Chl *a*), clorofila *b* (Chl *b*), carotenóides (Car), clorofila total (Chl_{tot}), razão de clorofila (*a/b*) e razão de clorofila total e carotenóides (Chl_{tot}/Car) em folhas jovens de *Inga edulis*, submetidas a diferente fontes de nitrogênio.

Parâmetro	Tratamento		
	Controle	Nitrato	Amônia
Chl <i>a</i>	2,34 ± 0,34 b	2,17 ± 0,25 b	2,71 ± 0,33 a
Chl <i>b</i>	0,73 ± 0,12 b	0,69 ± 0,09 b	0,88 ± 0,12 a
Car	1,12 ± 0,15 b	1,04 ± 0,13 b	1,28 ± 0,17 a
Chl tot	3,08 ± 0,46 b	2,86 ± 0,33 b	3,59 ± 0,44 a
<i>a/b</i>	3,19 ± 0,18 a	3,16 ± 0,19 a	3,08 ± 0,15 a
Chl tot / Car	2,73 ± 0,18 a	2,73 ± 0,10 a	2,79 ± 0,09 a
ICC	43,37 ± 12,18 a	42,42 ± 11,86	49,31 ± 12,32

Os valores são médias ± desvios padrões ($n = 11$). Médias seguidas pela mesma letra na horizontal não difere estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O maior teor de Chl *a* observado no tratamento com amônia possivelmente pode estar relacionado ao maior suprimento de N preferido pela espécie, uma vez que estudos têm mostrado forte correlação existente entre o *status* de N na planta e a concentração de clorofila foliar, bem como, possivelmente, possa ser o NH_4^+ a preferência por essa espécie, já que existem relatos de espécie, tais como, *Inga marginata*, ter preferência a fonte NH_4^+ como a ideal para complementação de N (Gonçalves *et al.* 1996).

Este estudo corrobora com os resultados de Majerowicz *et al.* (2000) que, ao estudarem o crescimento e metabolismo de *Catsetum fimbriatum* cultivadas com diferentes fontes de N, observaram que essa planta quando tratada com NO_3^- apresentaram teores de clorofila baixo, em relação ao uso de NH_4^+ .

Para o parâmetro ICC, não se verificou diferença significativa entre os tratamentos, sendo que o tratamento com amônia exibiu tendência de maior valor, quando comparado com os demais tratamentos.

O conteúdo das clorofilas das folhas (Chl *a* e *b*) representa uma característica apropriada na avaliação da aquisição de N pelas plantas, sob diferentes condições ambientais. Assim, a disponibilidade de N pode influenciar decisivamente na capacidade fotossintética das plantas (Kerbauy 2008). Diante disso, a leve tendência na indicação de maior valor de ICC nas plantas do tratamento com amônia pode sugerir maiores valores de N foliar nas plantas deste tratamento (análise em andamento). Em relação aos teores de pigmentos cloroplásticos, verificou-se diferença significativa nos teores de Chl *a*, Chl *b*, carotenóides e Chl_{tot} para o tratamento amônia quando comparado com os demais tratamentos (Tabela 2).

Existem ferramentas não destrutivas capazes de indicar danos ao fotossistema II que caracterizam a condição de estresse de plantas, como é o caso da fluorescência da clorofila *a* (Gonçalves *et al.*, 2009). Um importante parâmetro atualmente muito utilizado, derivado do transiente da fluorescência da clorofila *a*, é o PI_{ABS} , que permite análise mais ampla do desempenho fotossintético, tais como a relação entre a eficiência de absorção de fótons e de captação de energia excitada no PSII, bem como a análise da densidade de centros de reação ativos excitados e, também, a probabilidade da energia mover um elétron após a Q_A (Gonçalves e Santos Junior 2005).

Os parâmetros dos fluxos fenomenológicos por seção transversal não diferiram significativamente (tabela 3). Possivelmente devido a condição de luz moderada não modificando o comportamento quanto ao processamento de luz do PSII mesmo com

aplicação das formas de nitrogênio na dosagem de 5mM. Entre os fatores que, provavelmente, contribuíram para os valores de PI_{ABS} não diferirem estatisticamente entre os tratamentos, foi o fato de todos os tratamentos terem sofrido aplicações nutricionais (micronutrientes), bem como, terem sido irrigadas diariamente e estarem em condições de luz moderada (sombrite). Assim, pode-se perceber que as plantas não se apresentaram em estado de estresse, e que, provavelmente a dose da fonte de N aplicada não foi suficiente para causar algum reação mais importante na determinação deste parâmetro

Tabela 3 - Fluxo fenomenológico por seção transversal evidenciando: ABS/CS = número de fótons absorvidos; TR_o/CS = taxa máxima de energia capturada; ET_o/CS = transporte de elétrons; DI_o/CS = Energia de dissipação e RC/CS = densidade dos centros de reação em folhas jovens de *Inga edulis*, submetidas a dosagem de diferente fontes de nitrogênio.

Parâmetro	Tratamento		
	Controle	Nitrato	Amônia
IP_{ABS}	1,54 ± 0,43 a	1,60 ± 0,45 a	1,51 ± 0,37 a
ABS/CS	834,21 ± 53,53 a	829,57 ± 65,31 a	860,33 ± 66,61 a
TR_o/CS	653,72 ± 30,66 a	648,86 ± 42,40 a	674,70 ± 39,03 a
ET_o/CS	350,99 ± 22,72 a	352,98 ± 29,22 a	357,71 ± 19,35 a
DI_o/CS	180,48 ± 26,46 a	180,71 ± 26,13 a	185,63 ± 29,42 a
RC/CS_o	290,23 ± 20,64 a	295,40 ± 20,48 a	302,48 ± 13,71 a

Os valores são médias ± desvios padrões ($n = 11$). Médias seguidas pela mesma letra na horizontal não difere estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

4. Conclusão

O bom desempenho das plantas jovens de *Inga edulis* ficou evidente na presença do N fixado.

O fornecimento adicional de NH_4^+ aumentou a assimilação de carbono, sugerindo a preferência da forma amoniacal por esta espécie, quando comparado com a forma nítrica.

As formas de N parecem ter importante efeito sobre os parâmetros fotossintéticos da espécie *Inga edulis* e que modificações na dosagem poderá exibir valores mais determinantes quanto a preferência e dosagem ideal de N por esta espécie em seu estabelecimento inicial.

5. Referências

Araújo J.F. 2006. *Padrões nutricionais de espécies lenhosas do cerrado*. Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília. 67p.

Barreto, D.C. de S.; Gonçalves, J.F.C.; Santos Júnior, U.M.; Fernandes, A.V.; Bariani, A.; Sampaio, P.T.B. 2007. Biomass accumulation, photochemical efficiency of photosystem II, nutrient contents and nitrate reductase activity in young rosewood plants (*Aniba roseodora* Ducke) submitted to different $NO_3^-:NH_4^+$ ratios. *Acta Amazonica*, 37(4): 533-542.

Bown, H.E.; Watt, M.S.; Clinton, P.W.; Mason, E.G. 2010. Influence of ammonium and nitrate supply on growth, dry matter partitioning, N uptake and photosynthetic capacity of *Pinus radiata* seedlings. *Trees*, 24:1097-1107.

Franco A.C., Bustamante M., Caldas L.S., Goldstein G., Meinzer F.C., Kozovits A.R., Rundel P., Coradin V.T.R. 2005. Leaf functional traits of Neotropical savanna trees in relation to seasonal water deficit. *Trees*, 19:326-335.

Gonçalves J.F.C.; Santos Junior U.M. 2005. Utilization of the chlorophyll *a* fluorescence technique as a tool for selecting tolerant species to environments of high irradiance. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17:307-313.

Gonçalves, C.A.; Goi, S.R.; Net, J.J. 1996. Crescimento e nodulação de *Inga maginata* em resposta à adição de nitrogênio, fósforo e inoculação com rizóbio. *Floresta e Ambiente*, 1(6): 118-126.

Gonçalves, J.F.C.; Silva, C.E.M.; Guimarães, D.G. 2009. Características fotossintéticas e potencial hídrico foliar de plantas jovens de andiroba submetidas à deficiência hídrica e à reidratação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44: 8-14.

Gyimah, R.; Nakao, T. 2007. Early growth and photosynthetic responses to light in seedlings of three tropical species differing in successional strategies. *New Forests*, Berlin, 33: 217-236.

Hendry G.A.F.; Price A.H. 1993. Stress indicators: Chlorophylls and carotenoids. p 148-152. In: Hendry, G.A.F.; Grime, J.P. (Eds.). *Methods in Comparative Plant Ecology*. Chapman & Hall, London.

Huppe, H.C.; Turpin, D.H. 1994. Integration of carbon metabolism and nitrogen metabolism in plant and algal cells. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 45:577- 607.

Kerbauy, G.B. 2008. *Fisiologia vegetal*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 431 pp.

Majerowicz, N.; Kerbauy, G.B.; Nievola, C.C.; Suzuki, R.M. 2000. Growth and nitrogen metabolism of *Catsetum fimbriatum* (orchidaceae) grown with different nitrogen sources. *Environmental and Experimental Botany*, 44: 195-206.

Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2ª ed. Academic Press, San Diego, 889 pp.

Peixoto M. M. 2007. *Variações sazonais no metabolismo de carbono e relações hídricas em espécies lenhosas do cerrado de diferentes grupos funcionais*. Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília, 46 p.

Pierce L. L., Running S.W., Walker, J. 1994. Regional scale relationships of leaf area index to specific leaf area and leaf nitrogen content. *Ecological Applications*, 4:313-321.

Srivastava, A.; Strasser, R.J.; Govindjee. 1999. Greening of peas: parallel measurements of 77 K emission spectra, OJIP chlorophyll a fluorescence transient, period four oscillation of the initial fluorescence level, delayed light emission, and P700. *Photosynthetica*, 37: 365-392.

Taiz, L.; Zeiger, E. 2008. *Fisiologia vegetal*. 4ª edição, Artmed, Porto Alegre, RS. 819 pp.

Witkowski, E.T.F.; Lamont, B.B. 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia*, 88: 486-493.