

CRESCIMENTO E TROCAS GASOSAS DE PLANTAS JOVENS NODULADAS DE *Inga edulis* Mart. SUBMETIDAS À FERTILIZAÇÃO AMONÍACAL SOB REGIMES HÍDRICOS CONTRASTANTES

Jussara de Souza LOPES¹
José Francisco de Carvalho GONÇALVES²

¹Bolsista PIBIC/CNPq; ²Orientador CDAM/INPA

INTRODUÇÃO

A sobrevivência e o estabelecimento inicial das plantas, em ambientes naturais ou degradados, dependem da captação e utilização eficiente de recursos primários como: luz, temperatura, água, CO₂ e nutrientes. O fato é que, a baixa disponibilidade de algum desses recursos pode afetar significativamente a utilização dos outros recursos e, por conseguinte, os processos funcionais da planta (Grandis *et al.* 2010; Niu *et al.* 2012).

Dentre os fatores abióticos, a deficiência hídrica é considerada um dos fatores que mais afetam as plantas, uma vez que a redução do *status* hídrico pode promover diminuições significativas nas taxas de crescimento, absorção de nutrientes, assimilação de carbono (P_N), condutância estomática (g_s) e na transpiração (E) (Albuquerque *et al.* 2013). Atualmente, tem sido sugerido que o estado nutricional desempenha um papel fundamental no aumento da resistência das plantas a fatores de estresses ambientais (Waraich *et al.* 2011).

Algumas evidências sugerem que o acúmulo de nutrientes, em condições de deficiência hídrica, pode minimizar os efeitos negativos de estresse hídrico, produzindo maiores concentrações de antioxidantes (ex: superóxido dismutase, catalase e peroxidase) minimizando a fotoinibição/foto-oxidação. Além disso, os nutrientes podem estimular o crescimento radicular, ajudar no ajuste da condutância estomática, na manutenção do potencial de água na folha e no ajuste osmótico, bem como na manutenção das taxas fotossintéticas (Waraich *et al.* 2011).

Dentre os nutrientes essenciais para as plantas, o nitrogênio é invariavelmente o elemento requerido em maior quantidade e, quando suprimido em condições limitantes, diminui o crescimento e o desenvolvimento vegetal (Helali *et al.* 2010). Contudo, estudos que procuram investigar as respostas de espécies florestais da região amazônica sobre crescimento e os aspectos fisiológicos frente a fatores de estresse (ex: deficiência hídrica) ainda são relativamente recentes (Ferreira *et al.* 2009; Santos e Absy 2010), especialmente quando se trata de possíveis aplicações como é o caso da espécie *Inga edulis* Mart. espécie que se destaca por ser fixadora de nitrogênio e estar presente em toda a Bacia Amazônica. Esta espécie pode incrementar a ciclagem de nutrientes, especialmente nitrogênio na matéria orgânica do solo (Nichols e Carpenter 2001). Portanto, neste trabalho investigou-se o crescimento e os aspectos fisiológicos de plantas jovens noduladas de *Inga edulis* submetidas à fertilização amoniacal sob regimes hídricos contrastantes, bem como sua capacidade de recuperação após a reidratação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal (LFBV) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) em regime de casa de vegetação. Sementes de *I. edulis* foram colocadas para germinar em bandejas plásticas contendo areia lavada. Após 15 dias, as plantas foram transferidas para sacos plásticos (12 x 18 cm) contendo areia lavada, a fim de que as plantas se aclimassem na casa de vegetação do LFBV. Após 6 meses de aclimação, as plantas foram selecionadas quanto a uniformidade de tamanho e estado fitossanitário, inoculadas e transplantadas para vasos plásticos grandes (30,5 x 18 x 29,5 cm). Em seguida, as plantas foram divididas em dois tratamentos: (i) Irrigado e (ii) Não irrigado. O experimento teve dois tratamentos com dez repetições cada, totalizando 20 plantas.

O substrato utilizado foi uma mistura de Latossolo Amarelo e areia (2:1), pobre em nitrogênio e fósforo. Para a correção do pH, adubação básica e para a complementação dos demais nutrientes foram aplicados uma mistura de 3:1 de carbonato de cálcio (CaCO₃) e carbonato de magnésio (MgCO₃), respectivamente (Ribeiro *et al.* 1999). A dosagem de nutrientes aplicada ao substrato foi: 0,3 g kg⁻¹ de N, 0,2 g kg⁻¹ de P, 0,2 g kg⁻¹ de K, 0,139 g kg⁻¹ de Ca, 0,082 g kg⁻¹ de S, 0,046 g kg⁻¹ de Mg, 5 mg kg⁻¹ de Fe, 5 mg kg⁻¹ de Zn, 4 mg kg⁻¹ de Mn, 1,5 mg kg⁻¹ Cu, 0,8 mg kg⁻¹ de B, 0,15 mg kg⁻¹ de Mo.

O período experimental foi de 120 dias no qual foram avaliados os efeitos da deficiência hídrica e a recuperação após a reidratação. Inicialmente os tratamentos de fertilização foram divididos em dois grupos: irrigados (IR) e não irrigados (NI). Após 72 dias de experimento, o tratamento irrigado continuou sendo hidratado e o não irrigado foi induzido ao estresse hídrico até a obtenção dos valores de fotossíntese (P_N) próximos à zero. Posteriormente, as plantas submetidas à suspensão hídrica foram reidratadas e monitoradas até o processo de recuperação das variáveis fotossintéticas.

O crescimento absoluto (CA) em altura (a), diâmetro (d), massa seca total (MST), massa seca dos nódulos (MSN) e números de nódulos foram calculados conforme Bugbee (1996) e Davanzo *et al.* (2002). O crescimento absoluto foi determinado pela diferença entre as medidas realizadas no início e no fim de cada fase experimental. A massa seca da raiz (MSR), nódulo (MSN), caule (MSC) e total (MST) foram determinadas a partir de amostras secas em estufa a 65°C até atingir massa constante. A partir do material seco foram calculados: fração de massa foliar (FMF=MSF/MST), fração de massa caulinar (FMC=MSC/MST), fração de massa radicular (FMR=MSR/MST) e fração de massa dos nódulos (FMN=MSN/MST).

Os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* foram obtidos por meio de um fluorômetro portátil (Handy PEA, Hansatech Instruments, Norfolk, UK) entre os horários de 4:00 e 6:00 a.m. em três folhas por planta. (Gonçalves *et al.* 2005). As respostas relacionadas aos transientes da fluorescência da clorofila *a* foram obtidas a partir de software específico (Handy PEA software - 1,30), de acordo com equações do teste JIP (Strasser *et al.* 2004). A partir da curva JIP foi calculado o parâmetro F_v/F_m , que diz respeito sobre o rendimento quântico do fotossistema II.

Os parâmetros de trocas gasosas foram obtidos por meio do analisador portátil de gás infravermelho, sistema aberto (LI-6400, LI-COR, Lincoln, Nebraska, USA) conforme Santos Junior *et al.* (2006). As mensurações foram realizadas numa folha por planta, entre 7h30 e 12h30 em folhas saudáveis e expandidas localizadas no terço médio das plantas. A câmara foliar do equipamento foi ajustada para concentração de CO₂, temperatura foliar e vapor d'água de 400 μmol mol⁻¹, 31±1°C e 21±1 mmol mol⁻¹, respectivamente. Foram determinados: fotossíntese líquida (P_N), respiração no escuro (R_d), condutância estomática (g_s) e transpiração (E).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com dois tratamentos (irrigado e não irrigado). Os dados foram previamente submetidos aos testes de Lilliefors e Levene para a verificação do cumprimento às premissas de normalidade e homocedasticidade, respectivamente. As médias foram comparadas pelo teste de t ($p < 0,05$). As análises foram processadas no programa Statistica versão 7.0 para Windows (STATSOFT INC. 2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quanto ao acúmulo de massa seca observou-se que o fator irrigação promoveu efeito significativo somente para a massa seca caulinar (MSC), no qual as plantas irrigadas exibiram valores 27% maiores que as plantas não irrigadas (Tabela 1). Com relação aos demais parâmetros, massa seca foliar (MSF), radicular (MSR), de nódulos (MSN), e total (MST), número de nódulos (n) e, fração massa foliar (FMF), radicular (FMR) e de nódulos (FMN), não foi observado diferença (Tabela 1). Entretanto, ressalta-se que a extensão dos efeitos da deficiência hídrica nas espécies vegetais depende da sua intensidade e da duração da capacidade genética das plantas em responder às mudanças do ambiente (Pincelli 2010).

Tabela 1. Massa seca foliar (MSF), caulinar (MSC), radicular (MSR), de nódulos (MSN) e total (MST), número de nódulos (n) e, fração massa foliar (FMF), caulinar (FMC), radicular (FMR) e de nódulos (FMN), em plantas jovens de *Inga edulis* fertilizadas com amônio sob regimes hídricos contrastantes (irrigado e não irrigado). Os valores são médias seguidas de erros-padrão. Letras minúsculas distintas nas linhas indicam valores significativamente diferentes entre os efeitos de irrigação (*teste t*, $p < 0,05$). $n=7$.

Parâmetros	Irigadas	Não irrigadas
MSF	10,90±1,27a	8,60±2,05a
MSC	8,66±1,10a	6,80±0,72b
MSR	10,69±0,93a	8,61±0,80a
MSN	0,06±0,02a	0,10±0,03a
MST	30,3±2,7a	24,1±3,5a
Nódulos (n)	12±2a	20±6a
FMF	0,35±0,03a	0,32±0,03a
FMC	0,29±0,03a	0,29±0,02a
FMR	0,36±0,01a	0,38±0,02a
FMN	0,002±0,001a	0,004±0,001a

Alguns trabalhos têm demonstrado que o estresse hídrico tende a reduzir as taxas de fixação biológica de nitrogênio (FBN) devido às limitações fisiológicas da planta durante a simbiose (Marino *et al.* 2013). Outros estudos relataram que o aumento de massa seca dos nódulos durante o estresse hídrico pode ocorrer devido à diminuição do N no solo sob deficiência hídrica induzindo dessa forma aumento da nodulação em espécie fixadora de nitrogênio (Wurzbuger e Miniati 2014). Diferentemente do que foi verificado neste trabalho onde o estresse hídrico não promoveu efeitos

significativos em relação ao número de nódulos, na massa seca e na fração massa de nódulos, quando comparado às plantas irrigadas (Tabela 1).

A diminuição das taxas de difusão de CO₂ da atmosfera para o sítio de carboxilação é geralmente considerada a principal causa para redução da fotossíntese sob limitação hídrica (Catuchi *et al.* 2012).

As plantas do tratamento não irrigado, após suspensão da irrigação, apresentaram valores de fotossíntese próximos a zero no quinto dia de estresse (Figura 1a). Durante o período de reidratação observou-se que plantas de *I. edulis* apresentaram recuperação total das taxas de fotossíntese no oitavo dia após o retorno da rega (Figura 1a).

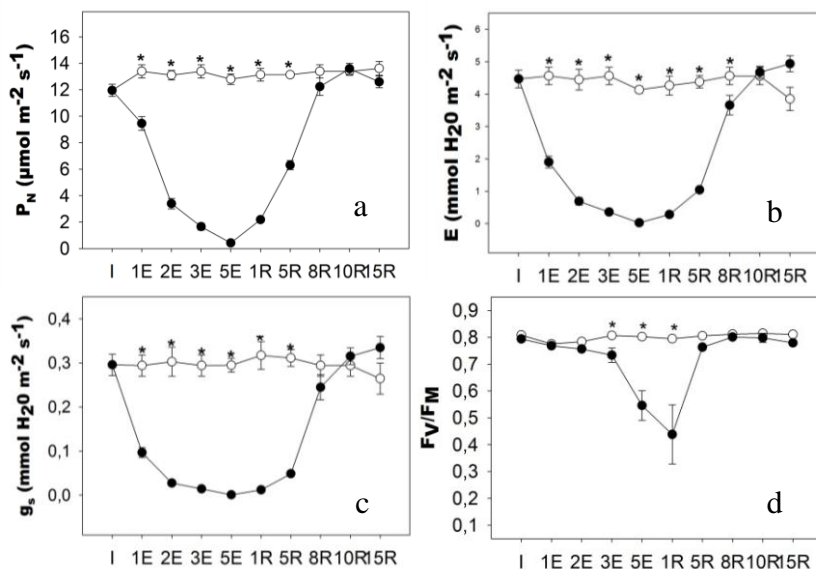


Figura 1. (a) Taxas de fotossíntese líquida (P_N), (b) Transpiração (E), (c) Condutância estomática (g_s) e (d) rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m) de plantas jovens de *I. edulis* fertilizadas com amônio sob regimes hídricos contrastantes. Onde (I) início, (E) estresse e (R) reidratação.

Com relação aos valores de transpiração e condutância estomática observou-se que as plantas não irrigadas exibiram redução no primeiro dia de suspensão da irrigação, à semelhança do ocorrido com a fotossíntese (Figura 1b-c). Os menores valores de condutância e transpiração foram atingidos no quinto dia após suspensão da rega, quando comparados com as plantas irrigadas (Figura 1b-c). Após terem sido reidratadas, a recuperação das taxas de transpiração ocorreu no décimo dia e da condutância estomática no oitavo dia após o retorno da rega (Figura 1b-c)

A diminuição das taxas de fotossíntese, condutância estomática e transpiração foi relativamente rápida atingindo valores próximos a zero em 5 dias após a suspensão da irrigação, sugerindo estresse hídrico bem intenso, quando comparado às respostas ao estresse de outras espécies arbóreas como *Mimquartia guianensis*, *Carapa guianensis* e *Hevea brasiliensis* (Liberato *et al.* 2006; Chen *et al.* 2010). Nesse experimento, em *I. edulis*, esses resultados podem ser consequência do efeito do substrato, que era bem arenoso e não possuía boa capacidade de retenção de água. Por outro lado, os resultados também sugerem que a espécie *I. edulis* pode ser mais sensível ao estresse hídrico, uma vez que a redução da fotossíntese para valores próximos de 0 μmol m⁻² s⁻¹ ocorreu em curto período sem irrigação.

Na segunda fase do experimento (período de reidratação) as plantas de *I. edulis* apresentaram recuperação lenta para as variáveis de trocas gasosas quando comparadas à outras espécies sob condições experimentais de estresse hídrico (Liberato *et al.* 2006; Chen *et al.* 2010), aspecto que também corrobora com as evidências de baixa tolerância da espécie *I. edulis* para deficiência hídrica.

Diante das alterações promovidas pela deficiência hídrica em folhas de *I. edulis* tornou-se importante verificar e analisar o fluxo de elétrons a partir da fluorescência da clorofila *a*. O fato é que esta técnica tem sido uma poderosa ferramenta por ter sensibilidade e não ser invasiva, possibilitando a obtenção de informações rápidas quanto ao funcionamento dos dois fotossistemas (Stirbet e Govindjee 2011). Assim, considerando que a água funciona como doador de elétrons na fotossíntese, a visualização do fluxo de e⁻ poderia contribuir para entendimento do processo fotossintético da espécie *I. edulis* nas condições experimentais testadas. Nesse trabalho foi observado que os valores de F_v/F_m atingiram valores próximos de 0,5 no quinto dia de estresse hídrico, quando a fotossíntese chegou próximo a zero (Figura 1d). O menor valor foi observado no primeiro dia de reidratação, sugerindo que alguns efeitos promovidos

pelo estresse sobre o aparato fotoquímico foram mais duradouros. A total recuperação do rendimento fotoquímico ocorreu no quinto dia após a reidratação (Figura 1d).

As informações do rendimento quântico do fotossistema II (PSII), obtidos a partir da fluorescência da clorofila *a* são importantes no monitoramento de espécies arbóreas submetidas a diferentes condições de estresse. Assim, a capacidade em manter os valores de Fv/Fm relativamente altos sob estresse hídrico, pode ser um indicativo de eficiência no uso da irradiância e, conseqüentemente, da assimilação de carbono (Gonçalves *et al.* 2010). Plantas jovens de *I. edulis* exibiram rápida recuperação do máximo rendimento quântico do fotossistema II (Fv/Fm) após a reidratação.

CONCLUSÃO

Plantas de *I. edulis* parecem ser pouco tolerantes ao estresse hídrico, face ao curto período de tempo sem irrigação em que atingiram valores de fotossíntese igual a zero. Contudo, a fertilização amoniacal, sob condições não limitantes de outros nutrientes e nas concentrações utilizadas neste trabalho, promoveu boa resposta das plantas jovens de *I. edulis* ao estresse hídrico, quanto ao acúmulo de massa seca.

REFERÊNCIAS

- Albuquerque, M.P.F.; Moraes, F.K.C.; Santos, R.I.N.; Castro, G.L.S.; Ramos, E.M.L. S.; Pinheiro H.A. 2013. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno - africano submetidas à déficit hídrico e reidratação. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 48: 9-16
- Bugbee, B.G. 1996. Growth, analyses and yield components. In: Salisbury, F. B. (Ed.). *Units, Symbols and Terminology for plant physiology*, Oxford University Press, 115-119.
- Catuchi, T.A.; Guidorizzi, F.V.C.; Guidorizi, K.A.; Barbosa, A. de M.; Souza, G.M. 2012. Respostas fisiológicas de cultivares de soja à adubação potássica sob diferentes regimes hídricos. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 47: 519-527.
- Chen, T.H.H.; Murata, N. 2010. Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications. *Plant, Cell and Environment*, 34: 1-20.
- Davanso, V.M.; Souza, L.A.; Medri, M.E.; Pimenta, J.A.; Bianchini, E. 2002. Photosynthesis, growth and development of *Tabebuia avellanedae* Lor. Ex. Griseb (Bignoniaceae) in flooded soil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 45: 375-384.
- Ferreira, M.J.; Gonçalves, J.F.C.; Ferraz, J.B.S. 2009. Photosynthetic parameters of young Brazil nut (*Bertholletia excelsa* H. B.) plants subjected to fertilization in a degraded area in Central Amazonia. *Photosynthetica*, 47: 616-620.
- Grandis, A.; Godoi, S.; Buckeridge, M.S. 2010. Respostas fisiológicas de plantas amazônicas de regiões alagadas às mudanças climáticas globais. *Revista Brasileira de Botânica*, 33: 1-12.
- Gonçalves, J.F.C.; Barreto, D.C.S.; Santos Junior, U.M.; Fernandes, A.V.; Sampaio, P.T.B.; Buckeridge, M.S. 2005. Growth, photosynthesis and stress indicators in young rosewood plants (*Aniba rosaeodora* Ducke) under different light intensities. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17: 325-334.
- Gonçalves, E.R.; Ferreira, V.M.; Silva, J.V.; Endres, L.; Barbosa, T.P.; Duarte, W. de G. 2010. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 14: 378-386.
- Helali, S.M.; Nebli, H.; Kaddour, R.; Mahmoudi, H.; Lachaâl, M.; Oureghi, Z. 2010. Influence of nitrate-ammonium ratio on growth and nutrition of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Soil*, 74: 336-365.
- Liberato, M.A.R.; Gonçalves, J.F. De C.; Chevreuil, L.R.; Nina Junior, A. Da R.; Fernandes, A.V.; Santos Junior, U.M. dos. 2006. Leaf water potential, gas exchange and chlorophyll a fluorescence in acariquara seedlings (*Minquartia guianensis* Aubl.) under water stress and recovery. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18: 315-323.
- Nichols, J.D.; Rosemeyer, M.E.; Carpenter, F.L.; Kettler, J. 2001. Intercropping legume trees with native timber trees rapidly restores cover to eroded tropical pasture without fertilization. *Forest Ecology and Management*, 152:195-209.
- Niu, Y.F.; Chai, R.S.; Jin, G.L.; Wang, H.; Tang, C.X.; Zhang, Y.S. 2012. Responses of root architecture development to low phosphorus availability: a review. *Annals of Botany*, 1-18.
- Marino, D.; Damiani, I.; Gucciardo, S.; Mijangos, I.; Pauly, N.; Puppo, A. 2013. Inhibition of nitrogen fixation in symbiotic *Medicago truncatula* upon Cd exposure is a local process involving leghaemoglobin. *Journal of Experimental Botany*, 64: 5651-5660.
- Pincelli, R.P. 2010. *Tolerância à deficiência hídrica em cultivares de cana-de-açúcar avaliada por meio de variáveis morfofisiológicas*. Dissertação de mestrado - Faculdade de Ciências Agrônomicas/ da UNESP, Botucatu, São Paulo. 78p.
- Ribeiro, A. H.; Guimarães, P. T. C.; Alvarez V., V. H. (Ed.). 1999. *Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais*. Comissão de Fertilidade do Solo, Viçosa, Minas Gerais. 359pp.
- Santos, C.F.; Absy, M.L. 2010. Polinizadores de *Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl. (Lecythidales: Lecythidaceae): Interações com abelhas sem ferrão (Apidae: Meliponini) e nicho trófico. *Ecology, Behavior and Bionomics*, 39: 854-861.
- Santos Junior, U.M.; Gonçalves, J.F.C.; Feldpausch, T.R. 2006. Growth, leaf nutrient concentration and photosynthetic nutrient use efficiency in tropical tree species planted in degraded areas in central Amazonia. *Forest Ecology and Management*, 226: 299-309.

Stirbet, A.; Govindjee. 2011. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll *a* fluorescence induction) and Photosystem II: Basics and applications of the OJIP fluorescence transient. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 1011-1344.

Strasser, R.J.; Tsimilli-Michael, M.; Srivastava, A. 2004. Analysis of the chlorophyll *a* fluorescence transient. p.321-362. In: Papageorgiou, G.C.; Govindjee (Ed.). *Chlorophyll *a* Fluorescence: A Signature of Photosynthesis*, Springer, Dordrecht.

Waraich, E.A.; Amad, R.; Ashraf, M.Y.; Saifullah, A.M. 2011. Improving agricultural water use efficiency by nutrient management. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B-soil and Plant Science*, 61(4): 291-304.

Wurzburger, N.; Miniat, C.F. 2014. *Drought enhances symbiotic di-nitrogen fixation and competitive ability of a temperate forest tree*. The University of Georgia, 25pp.