

JAILSON CAVALCANTE CUNHA

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E EXTRAÇÃO DE SÓDIO E
NUTRIENTES POR *Atriplex nummularia* EM RESPOSTA À
ADUBAÇÃO NITROGENADA E FOSFATADA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2013

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

T

C972a
2013
Cunha, Jailson Cavalcante, 1985-
Aspectos fisiológicos e extração de sódio e nutrientes por
Atriplex nummularia em resposta à adubação nitrogenada e
fosfatada / Jailson Cavalcante Cunha. – Viçosa, MG, 2013.
xi, 87 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Hugo Alberto Ruiz.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Halófitas. 2. Fósforo. 3. Fitorremediação. I. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Solos. Programa de
Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas. II. Título.

CDD 22. ed. 631.43

JAILSON CAVALCANTE CUNHA

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E EXTRAÇÃO DE SÓDIO E
NUTRIENTES POR *Atriplex nummularia* EM RESPOSTA À
ADUBAÇÃO NITROGENADA E FOSFATADA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 25 de outubro de 2013.

Profa. Maria Betânia G. dos S. Freire
(Co-orientadora)

Prof. Edson Márcio Mattiello

Prof. Renato Ribeiro Passos

Dr. Fernando A. Vieira Rodrigues

Prof. Hugo Alberto Ruiz
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Por alguns motivos se faz necessária a inclusão de nomes de muitas pessoas que puderam participar, de alguma forma, desses 39 meses de empenho para obtenção do tão sonhado título.

Meus sinceros agradecimentos:

Ao professor Hugo A. Ruiz, por ter assumido o risco de uma orientação à distância e pelos ensinamentos ao longo de todos esses anos; serei eternamente grato pelo conhecimento adquirido, exemplo de profissionalismo;

À professora Maria Betânia G. dos Santos Freire, que não poupou esforços para receber um pós-graduando de outra instituição, disponibilizando os mais variados recursos para a concepção da tese, sendo os mais valiosos o tempo e a sabedoria, doados de forma espontânea;

Ao professor Edivan, por disponibilizar equipamentos essenciais para determinação de algumas variáveis importantes para o desenvolvimento da tese;

Às estagiárias Emanuele, Cíntia Lins e Fabíola Estrela, contribuíram significativamente nos trabalhos de laboratório e casa de vegetação;

À minha família, que mais próxima pôde dar o apoio necessário para continuar determinado em busca da realização profissional;

À família Galvão, a família mineirinha que levarei para sempre no coração: D. Aparecida, Seu Geraldo (*In memoriam*), Ione, Marcinho, Rui, Sônia, Leda, Luiza, Janaína, Rodrigo, Ricardo, Camila, Daniel, Fátima e Eli, sempre recepcionando bem, dando o máximo de suporte para um nordestino estranho em terras Viçosenses;

Aos amigos: Jefferson Paes, Diogo Mendes, Paul Lama, David Palomino, Samuel Valadares, Fernando Vieira, Gelton Guimarães, Sandra Araújo e Maria Eunice, pelo apoio e por tornar os momentos em Viçosa mais agradáveis;

E aos amigos: Luiz Guilherme, Maércio, Anderson, João Victor, Wagner Pessoa, Jhonatha David, Patrícia Costa, Karina Kamimura, Haílson Ferreira e Janaína Cortez, pela paciência em aturar um intruso a todo tempo contestando e pedindo um auxílio intelectual.

Meus sinceros agradecimentos.

BIOGRAFIA

JAILSON CAVALCANTE CUNHA, filho de José Maria Cunha e Alaide Cavalcante Cunha, nasceu em Garanhuns, Pernambuco, em 11 de novembro de 1985.

Ingressou no curso de Engenharia Agrônômica na Universidade Federal Rural de Pernambuco, campus Recife, em março de 2003, graduando-se no ano de 2008. Foi bolsista de iniciação científica entre os anos de 2005 e 2008.

Em agosto de 2008, iniciou o mestrado em Solos e Nutrição de Plantas na Universidade Federal de Viçosa sob a orientação do professor Hugo Alberto Ruiz, submetendo-se à defesa de dissertação em julho de 2010.

No mesmo ano, iniciou o curso de Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas na Universidade Federal de Viçosa sob a orientação do professor Hugo Alberto Ruiz.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	ix
ABSTRACT.....	xi
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	4
CAPÍTULO 1	7
TRANSIENTES DA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA <i>a</i> EM <i>Atriplex nummularia</i> SOB ADUBAÇÃO NITROGENADA E FOSFATADA	7
RESUMO	7
ABSTRACT	9
1. INTRODUÇÃO	11
2. MATERIAL E MÉTODOS	12
2.1. Condução do experimento	14
2.2. Determinação dos transientes da fluorescência da clorofila <i>a</i>	15
2.2.1. Utilização do transiente da fluorescência completo: normalização e subtração	15
2.2.2. Equações do teste-JIP	16

2.3. Análises estatísticas	17
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
3.1. Análises dos transientes da fluorescência da clorofila <i>a</i> pelo teste-JIP	17
4. CONCLUSÕES	28
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
CAPÍTULO 2	33
RELAÇÕES HÍDRICAS E ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM <i>Atriplex</i> <i>nummularia</i> CULTIVADA EM SOLO SALINO-SÓDICO ADUBADO COM NITROGÊNIO E FÓSFORO	33
RESUMO	33
ABSTRACT	35
1. INTRODUÇÃO	36
2. MATERIAL E MÉTODOS	37
2.1. Análises estatísticas	39
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
3.1. Condutância estomática e potenciais hídricos	40
3.2. Enzimas do estresse oxidativo e proteínas solúveis	45
4. CONCLUSÕES	47
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
CAPÍTULO 3	53
EXTRAÇÃO DE SÓDIO POR <i>Atriplex nummularia</i> EM SOLO SALINO-SÓDICO SOB ADUBAÇÃO NITROGENADA E	53

FOSFATADA	
RESUMO	53
ABSTRACT	55
1. INTRODUÇÃO	56
2. MATERIAL E MÉTODOS	57
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
4. CONCLUSÕES	75
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
CONSIDERAÇÕES FINAIS	79
APÊNDICE	81

RESUMO

CUNHA, Jailson Cavalcante, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, outubro de 2013. **Aspectos fisiológicos e extração de sódio e nutrientes por *Atriplex nummularia* em resposta à adubação nitrogenada e fosfatada.** Orientador: Hugo Alberto Ruiz. Coorientadora: Maria Betânia G. dos Santos Freire.

Os solos afetados por sais têm aumentado nos últimos anos. A proporção dessas áreas pode continuar aumentando em consequência do manejo inadequado e das alterações climáticas. Alternativas de recuperação devem ser incessantemente estabelecidas e suas técnicas aprimoradas. A fitorremediação tem difundido-se como técnica viável e promissora. Nesse sentido, *Atriplex nummularia* é umas das principais halófitas com potencial de fitoextração. Foram dados três enfoques para avaliar planta e solo. Os três enfoques basearam-se em desenho experimental constituído por um arranjo fatorial 2 x 5, correspondendo a duas doses de fósforo (0 e 134 mg dm⁻³) e cinco doses de nitrogênio (0, 20, 40, 60 e 80 mg dm⁻³), dispostos em blocos casualizados com quatro repetições. Mudanças foram transplantadas com 60 dias de idade e monitoradas sob baixa disponibilidade hídrica no solo (-70 kPa) por 80 dias. No primeiro enfoque, com o objetivo de avaliar o comportamento fisiológico na fase de captação de energia luminosa da fotossíntese, realizaram-se medidas de fluorescência da clorofila *a* com um FluorPen FP 100 (Photon Systems Instruments) em folhas adaptadas ao escuro com pulso saturante de luz 3.000 μmol m⁻² s⁻¹. Analisaram-se os dados a partir do teste-JIP e da cinética da curva do transiente entre as fases O e J normalizada, e em adição, calculada a diferença cinética (ΔW_{OJ}) para

observar a formação da banda-K. Houve formação de banda-K nas plantas cultivadas com adubação fosfatada, indicando a inativação do complexo de evolução de oxigênio, por síntese de ATP em demasia, bloqueando o fluxo de prótons e elétrons durante o fotossistema II. A banda-K indica um desequilíbrio no processo fotossintético, evidenciando o efeito negativo do excesso de P em plantas de *Atriplex*. No segundo enfoque, objetivando avaliar a condutância estomática, potenciais hídricos, atividade de enzimas do estresse oxidativo e proteínas solúveis, realizaram-se medições de condutância estomática em diferentes horários do dia. Dados de potencial hídrico da planta foram coletados no período de máximo turgor foliar, utilizando-se câmara de Scholander. Coletaram-se folhas para determinação de potencial osmótico, atividade das enzimas catalase e peroxidase do ascorbato e proteínas solúveis. No período das 21 às 22 h, a g_s foi mais elevada na presença de P. A g_s medida a cada hora do dia das 6 às 22 h foi menor na maior dose de N. Isso indica que N é mais efetivo na redução da condutância estomática, favorecendo a tolerância ao déficit hídrico. No terceiro enfoque, objetivou-se avaliar a produção de matéria seca, a capacidade de extração de sódio e a absorção de nutrientes pela halófito. Para isso, as plantas foram colhidas para quantificação de produção e determinação de teores de Na e nutrientes em folhas, caules e raízes. Determinaram-se os teores de Na nas fases trocável e solúvel, dosando-o com fotômetro de chama. Houve diminuição de Na no extrato da pasta de saturação e no complexo de troca com o incremento de N no solo. O fornecimento de N potencializa a extração de Na e outros nutrientes pela *Atriplex nummularia*, podendo ser uma técnica viável a ser adicionada no plano de manejo para recuperação de solos afetados por sais pelo processo fitorremediação.

ABSTRACT

CUNHA, Jailson Cavalcante, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, October, 2013. **Physiological aspects and extract of sodium and nutrients by *Atriplex nummularia* in response to nitrogen and phosphate fertilization.** Adviser: Hugo Alberto Ruiz. Co-adviser: Maria Betânia G. dos Santos Freire.

The salt affected soils have increased in recent years. The proportion of these areas may continue to increase as a result of inadequate management and climate change. Recovery alternatives should be established and continually improved their techniques. Phytoremediation has been promoting itself as a viable and promising technique. In this sense, *Atriplex nummularia* is one of the main halophytes with potential for phytoextraction. Three approaches were taken to evaluate plant and soil. The three approaches were based on experimental design consisting of a 2x5 factorial arrangement, corresponding to two levels of phosphorus (0 and 134 mg dm⁻³) and five nitrogen rates (0, 20, 40, 60 and 80 mg dm⁻³), arranged in a randomized block design with four replications. Seedlings were transplanted at 60 days of age and monitored under low water availability in the soil (-70 kPa) for 80 days. In the first approach, with the aim of evaluating the physiological behavior during the capture of light energy in the photosynthesis, there were measures of chlorophyll a fluorescence with a FluorPen FP 100 (Photon Systems Instruments) in dark adapted leaves with saturating pulse light 3,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. We analyzed data from the JIP-test and the kinetics of the transient phases between O and J normalized curve, and additionally, the calculated kinetic difference (ΔW_{OJ}) to observe the formation of the K-band. There were K-band formation in cultured with phosphate fertilizer plants,

indicating the inactivation of oxygen evolution by ATP synthesis excessively complex, blocking the flow of protons and electrons for photosystem II. The K-band indicates an imbalance in the photosynthetic process, reflecting the negative effect of excess P in plants atriplex. In the second approach, to evaluate the stomatal conductance (g_s), water potential, activity of enzymes of oxidative stress and soluble proteins, measurements were taken of stomatal conductance at different times of day. Database of plant water potential were collected at maximum leaf turgor, using a Scholander chamber. Leaves were collected for determination of osmotic potential, activity of catalase, ascorbate peroxidase and soluble proteins. In the period from 21 to 22 h, the g_s was higher in the presence of P. The g_s measured every hour of the day from 6 to 22 h was lower at the highest dose of N. This indicates that N is more effective in reducing stomatal conductance, favoring tolerance to water deficit. In the third approach, aimed to evaluate the dry matter production, the extraction capacity of the sodium and nutrient uptake by halophyte. For this, plants were harvested for quantification and the determination of production levels of Na and nutrients in leaves, stems and roots. We determined the levels of Na in phases soluble and exchangeable, dosing it with a flame photometer. Decreased Na in the saturated soil paste extract and exchange complex with the increase of N in the soil. The N supply enhances the extraction of Na and other nutrients by *Atriplex nummularia*, may be a viable technique to be added to the management plan for the recovery of salt affected soils by phytoremediation process.

INTRODUÇÃO GERAL

A salinização dos solos, há décadas, causa problemas na agricultura em todo o mundo, diminuindo a superfície de terras agricultáveis. Isso leva à utilização de novas áreas que, frequentemente, seriam indicadas para preservação ambiental e não para exploração agrícola.

No Brasil, a região nordeste é a mais afetada pelo processo de salinização e/ou sodificação. Nela prevalecem as elevadas taxas de evapotranspiração sobre as de precipitação, contribuindo para o acúmulo de sais em superfície e subsuperfície.

Dentre as áreas afetadas por sais, aquelas com problema de sodicidade é a que tem causado maiores dificuldades para o desenvolvimento agrícola. No intuito de minorar os problemas decorrentes da presença de elevados níveis de sódio tem sido utilizado o gesso como corretivo, associado à irrigação com água de baixa condutividade elétrica (Gomes et al., 2000; Barros et al., 2004, 2005; Leal et al., 2008). Embora, se bem manejada, seja uma técnica eficiente de recuperação de solos afetados por sais, é uma prática difícil de ser executada, haja vista a necessidade de um bom sistema de drenagem (Freire & Freire, 2007).

Por sua vez, a técnica da fitorremediação de áreas degradadas pela salinização do solo, com o uso de plantas com capacidade de extrair os íons formadores de sais no solo, acumulando-os na biomassa vegetal, configura

proposta promissora, já que é alternativa de baixo custo para recuperação, não é agressiva ao ambiente e possibilita um convívio contínuo com os fatores edáficos característicos dos climas áridos e semiáridos (Qadir et al., 2007). Além disto, a fitorremediação contribui para o sequestro de carbono, possibilitando a diminuição do estoque atmosférico por alocação na biomassa.

A fitorremediação com atriplex, a *Atriplex nummularia* tem se destacado entre as mais de 400 espécies, mostra-se eficiente no processo de recuperação de solos afetados por sais, acumulando, principalmente na parte aérea da planta, quantidades consideráveis de sódio (Ramos et al., 2004; Leal et al., 2008; Souza et al., 2011, 2012). Além de destacar-se pelo seu potencial forrageiro (Souto et al., 2005), constituindo-se como fonte alternativa de alimentos (Ben Salem et al., 2004), podendo ser incorporada na alimentação animal na forma de feno.

Baseada na potencialidade desta planta, numerosas características têm sido estudadas visando obter máximo entendimento das propriedades da halófita que possibilitem sua introdução definitiva como espécie fitorremediadora de solos afetados por sais. Assim, há pesquisas publicadas referentes ao crescimento sob estresse hídrico (Souza et al., 2011), ao estudo da microbiota do solo associada ao cultivo de atriplex (Santos et al., 2011), ao cultivo de atriplex em associação com corretivos químicos (Leal et al., 2008; Santos et al., 2013), ao acúmulo de nutrientes na planta (Porto et al., 2001; Souza et al., 2014), à anatomia da planta (Galindo, 2001; Souza et al., 2012), e à utilização na alimentação animal (Ben Salem et al., 2010; Barreto et al., 2012), entre outras.

Entretanto, existem respostas, eventualmente associadas à maioria das plantas, que ainda necessitam ser esclarecidas. As halófitas, em especial a atriplex, podem apresentar respostas diferenciadas, em termos fisiológicos e produtivos, quando o espaçamento de plantio é alterado, o déficit hídrico é acentuado, os níveis de salinidade são incrementados e há fornecimento de nutrientes adicionados por fertilizações.

O nitrogênio, nutriente mais exportado pela maioria das culturas, tem participação fundamental no incremento da área foliar, favorecendo o aumento da interceptação da radiação solar, aumentando a taxa

fotossintética e, em consequência, o nível de clorofila na planta (Epstein & Bloom, 2004). É importante destacar que as halófitas, através de determinados mecanismos de tolerância à salinidade, acumulam elevadas quantidades de sódio em suas folhas, sendo hipoteticamente sugerido que existe correlação positiva entre acúmulo de nitrogênio e sódio nas plantas.

O fósforo tem importante papel na armazenagem de energia, sendo fundamental nas reações que envolvem o ATP (Taiz & Zeiger, 2010). Em solos de regiões áridas e semiáridas, esse nutriente pode tornar-se limitante. Sua disponibilidade é diminuída pelos valores de pH, geralmente elevados, nesses solos. Em acréscimo, o fosfato pode ser precipitado na presença de concentrações elevadas de cálcio, reduzindo também sua disponibilidade.

Elevados níveis de sais, associados ao fornecimento de nutrientes a uma planta caracteristicamente conhecida pela sua rusticidade, podem modificar sobremaneira o comportamento fisiológico da planta, sendo importante avaliar os processos relacionados, principalmente os que envolvem captação de energia para os mais diversos processos metabólicos.

O objetivo foi avaliar, em casa de vegetação, aspectos fisiológicos relacionados à captação de energia luminosa, status hídrico, condutância estomática e enzimas do estresse oxidativo, produção e capacidade de extração de sódio da halófito *Atriplex*, cultivada em solo salino-sódico, em resposta a doses de nitrogênio, na ausência e na presença de adubação fosfatada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARRETO, V.N.S.; MENEZES, D.R.; PEREIRA, L.G.R.; ARAÚJO, G.G.L.A.; SILVA, A.E.V.N.; SOUSA, L.N.; BARBOSA, A.L.; COSTA, J.M.S. & MOREIRA, R.F. *Atriplex nummularia* as alimentary alternative to French free-range broiler. Rev. Bras. Saúde Prod. Anim., 13:214-223, 2012.
- BARROS, M.F.C.; FONTES, M.P.F.; ALVAREZ V., V.H. & RUIZ, H.A. Aplicação de gesso e calcário na recuperação de solos salino-sódicos do Estado de Pernambuco. R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental, 9:320-326, 2005.
- BARROS, M.F.C.; FONTES, M.P.F.; ALVAREZ V., V.H. & RUIZ, H.A. Recuperação de solos afetados por sais pela aplicação de gesso de jazida e calcário no Nordeste do Brasil. R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental, 8:59-64, 2004.
- BEN SALEM, H., NEFZAOU, A., BEN SALEM, L. Spineless cactus (*Opuntia ficus indica* f. nermis) and oldman saltbush (*Atriplex nummularia* L.) as alternative supplements for growing Barbarine lambs given straw-based diets. Small Rumin. Res., 51:65-73. 2004.
- BEN SALEM, H.; NORMAN, H.C.; NEFZAOU, A.; MAYBERRY, D.E.; PEARCE, K.L. & REVELL, D.K. Potential use of oldman saltbush (*Atriplex nummularia* Lindl.) in sheep and goat feeding. Small Rumin. Res., 91:13-28, 2010.
- EPSTEIN, E. & BLOOM, A.J. Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives. 2.ed. Sunderland, Sinauer, 2004. 400p.
- FAGERIA, N.K. & STONE, L.F. Manejo do nitrogênio. In: FAGERIA, N.K.; STONE, L.F. & SANTOS, A.B., eds. Manejo da fertilidade do solo para o arroz irrigado. Santo Antônio de Goiás, Embrapa Arroz e Feijão, 2003. p.51-94.
- FREIRE, M.B.G.S. & FREIRE, F.J. Fertilidade do solo e seu manejo em solos afetados por sais. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B. & NEVES, J.C.L., eds.

- Fertilidade do solo. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p.929-954.
- GALINDO, R.M.P. Variações estruturais e funcionais dos tricomas vesiculares e dos elementos xilemáticos em folhas de *Atriplex nummularia* Lindl., em resposta a salinidade. Recife, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2001. 90p. (Tese de Doutorado)
- GOMES, E.M.; GHEYI, H.R. & SILVA, E.F.F. Melhorias nas propriedades químicas de um solo salino-sódico e rendimento de arroz, sob diferentes tratamentos. R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental, 4:355-361, 2000.
- LEAL, I.G.; ACCIOLY, A.M.A.; NASCIMENTO, C.W.A.; FREIRE, M.B.G.S.; MONTENEGRO, A.A.A. & FERREIRA, F.L. Fitorremediação de solo salino sódico por *Atriplex nummularia* e gesso de jazida. R. Bras. Ci. Solo, 32:1065-1072, 2008.
- PORTO, E.R.; AMORIM, M.C.C. & SILVA JÚNIOR, L.G.A. The use of the brine from desalting brackish water to irrigate saltbush (*Atriplex nummularia*). R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental, 5:111-114, 2001.
- QADIR, M.; OSTER, J.D.; SCHUBERT, S.; NOBLE, A.D. & SAHRAWAT, K.L. Phytoremediation of sodic and saline sodic soils. Adv. Agron., 96:197-247, 2007.
- RAMOS, J.; LÓPEZ, M.J. & BENLLOCH, M. Effect of NaCl and KCl salts on the growth and solute accumulation of the halophyte *Atriplex nummularia*. Plant Soil, 259:163-168, 2004.
- SANTOS, K.C.F.; SILVA, M.S.L.; SILVA, L.E.; MIRANDA, M.A.; FREIRE, M.B.G.S. Atividade biológica em solo salino sódico saturado por água sob cultivo de *Atriplex nummularia*. Rev. Ciên. Agron., 42:619-627, 2011.
- SANTOS, M.A.; FREIRE, M.B.G.S.; ALMEIDA, B.G.; LINS, C.M.T. & SILVA, E.M. Dinâmica de íons em solo salino-sódico sob fitorremediação com *Atriplex nummularia* e aplicação de gesso. R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental, 17:397-404, 2013.
- SOUTO, J.C.R.; ARAÚJO, G.G.L.; SILVA, D.S.; PORTO, E.R.; TURCO, S.H.N. & MEDEIROS, A.N. Desempenho produtivo de ovinos

- alimentados com dietas contendo níveis crescentes de feno de erva sal (*Atriplex nummularia* Lindl.). Rev. Ciên. Agron., 36:376-381, 2005.
- SOUZA, E.R.; FREIRE, M.B.G.S.; CUNHA, K.P.V.; NASCIMENTO, C.W.A.; RUIZ, H.A. & LINS, C.M.T. Biomass, anatomical changes and osmotic potential in *Atriplex nummularia* Lindl. cultivated in sodic saline soil under water stress. Environ. Exp. Bot., 82:20-27, 2012.
- SOUZA, E.R.; FREIRE, M.B.G.S.; MELO, D.V.M. DE & MONTENEGRO, A.A.A. Management of *Atriplex nummularia* Lindl. in a salt affected soil in a semi arid region of Brazil. Int. J. Phytoremediat., 16:73-85, 2014 (in press).
- SOUZA, E.R.; FREIRE, M.B.G.S.; NASCIMENTO, C.W.A.; MONTENEGRO, A.A.A.; FREIRE, F.J. & MELO, H.F. Fitoextração de sais pela *Atriplex nummularia* Lindl. sob estresse hídrico em solo salino-sódico. R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental, 15:477-483, 2011.
- TAIZ, L. & ZEIGER, E. Plant physiology. 5.ed. Sunderland, Sinauer, 2010. 782p

CAPÍTULO 1

TRANSIENTES DA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA *a* EM *Atriplex nummularia* EM RESPOSTA À ADUBAÇÃO NITROGENADA E FOSFATADA

RESUMO

Para os seres autotróficos, a fotossíntese é o processo inicial básico na captação de energia e CO₂ para a síntese de compostos orgânicos. O equilíbrio na fase inicial de conversão de energia luminosa em energia química é fundamental para o adequado funcionamento da maquinaria fotossintética. Objetivando avaliar o comportamento fisiológico na fase de captação de energia luminosa da fotossíntese em *Atriplex nummularia* cultivada em solo salino-sódico com adubação nitrogenada e fosfatada, foram determinados os transientes da fluorescência da clorofila *a* e os parâmetros do teste-JIP. O desenho experimental foi constituído por um arranjo fatorial 2 x 5, correspondendo a duas doses de P (0 e 134 mg dm⁻³) e cinco doses de N (0, 20, 40, 60 e 80 mg dm⁻³), dispostos em blocos casualizados completos com quatro repetições. Mudanças foram transplantadas com 60 dias de idade e monitoradas sob baixa disponibilidade hídrica no solo (-70 kPa) por 80 dias. O transiente da fluorescência OJIP foi medido com um FluorPen FP 100 (Photon Systems Instruments) em folhas adaptadas ao escuro com pulso saturante de 3.000 µmol m⁻² s⁻¹ de luz. A cinética da curva do transiente entre as fases O e J foi normalizada e, em adição, calculada a diferença cinética (ΔW_{OJ}) para observar a formação da banda-K. Os parâmetros foram avaliados de acordo com as equações do teste-JIP. Houve formação de banda-K nas plantas cultivadas com adubação fosfatada, indicando a inativação do complexo de evolução de oxigênio por síntese de ATP em demasia, bloqueando o fluxo de prótons e elétrons durante a passagem pelo fotossistema II. Alterações nos valores relativos dos parâmetros do teste-JIP foram mínimas quando analisados sob condições de adubação nitrogenada e fosfatada, com exceção para ET₀/CS₀ que mostrou maior eficiência da cadeia de transporte de elétrons quando as plantas foram

submetidas a doses crescentes de N. A análise do transiente e do teste-JIP foi eficiente na identificação de alterações no aparato fotossintético, mostrando-se boa ferramenta para avaliar o comportamento da planta sob fornecimento de nutrientes. A visualização da banda-K indica um desequilíbrio no processo fotossintético, evidenciando o efeito negativo do excesso de P em plantas de atriplex.

Palavras-chave: halófitas, fósforo, fase luminosa, adenosina trifosfato

ABSTRACT

For autotrophs, photosynthesis is the basic initial process in the capture of energy and CO₂ for the synthesis of organic compounds. The balance in the initial phase of converting light energy into chemical energy is fundamental to the proper functioning of the photosynthetic apparatus. To evaluate the physiological performance during capture light energy from photosynthesis in *Atriplex nummularia* grown on saline-sodic soil with nitrogen and phosphate fertilizers were determined transients of chlorophyll fluorescence parameters of the JIP-test. The experimental design was composed of a 2 x 5 factorial arrangement, corresponding to two P levels (0 and 134 mg dm⁻³) and five N rates (0, 20, 40, 60 and 80 mg dm⁻³), arranged in a randomized complete block design with four replications. Seedlings were transplanted at 60 days of age and monitored under low water availability in the soil (-70 kPa) for 80 days. The transient of the fluorescence was measured with a OJIP FluorPen FP100 (Photon Systems Instruments) in dark adapted leaf with saturating pulse 3000 mol⁻² s⁻¹ of light. The kinetic curve of the transient phases between O and J was normalized, and adding calculated kinetic difference (ΔW_{OJ}) to observe the formation of the K-band. The parameters were evaluated according to the equations of the JIP-test. There were K-band formation in plants cultured with phosphate fertilizer, indicating the inactivation of oxygen evolution complex by ATP synthesis excessively, blocking the flow of protons and electrons during passage through photosystem II. Changes in the relative values of the parameters of the JIP-test were minimal when analyzed under conditions of nitrogen and phosphate fertilizers, except for ET₀/CS₀ which showed higher efficiency of the electron transport chain when plants were exposed to increasing doses of N. The analysis of the transient and the JIP-test was effective in identifying changes in the photosynthetic apparatus, being good tool to assess the behavior of the plant in nutrient supply. The K-band visualization indicates an imbalance in the photosynthetic process, reflecting the negative effect of excess P in plants atriplex.

Key words: halophyte, phosphorus, light-dependent reactions, adenosine triphosphate

1. INTRODUÇÃO

A energia solar é fundamental para que os organismos autotróficos possam crescer e desenvolver-se naturalmente, convertendo essa energia, captada na fase luminosa da fotossíntese, em energia química a ser utilizada no metabolismo da planta.

Pesquisas voltadas para o entendimento dos processos envolvidos nas fases iniciais da fotossíntese são importantes para o desenvolvimento de novas técnicas que possibilitem obter eficiências máximas em processos produtivos.

Regiões nas quais as halófitas sobrevivem apresentam, normalmente, elevados níveis de irradiância, benéficos para o bom desempenho fotossintético, a depender da espécie vegetal. Porém, quando associados a elevados teores de sais na solução do solo, esses níveis podem determinar a diminuição do crescimento ou levar a planta à morte. O fornecimento de nutrientes relacionados ao ganho de rendimento fotossintético, em especial o N, pode diminuir o estresse causado pela alta irradiância já que a clorofila é caracteristicamente constituída de átomos de N e, esta, por sua vez, é a principal responsável pela captação da energia luminosa na fase inicial da fotossíntese.

Como forma de avaliar o desempenho fotossintético da planta, principalmente no processo de captação de energia luminosa, tem-se determinado a fluorescência da clorofila *a* e avaliada através de variados parâmetros que auxiliam a identificar, *in vivo*, possíveis causas de mudanças na fotossíntese e no desempenho da planta (Maxwell & Johnson, 2000; Baker, 2008; Bussotti et al., 2011; Gorbe & Calatayud, 2012).

Quando as folhas são irradiadas, os dois fotossistemas, PSII e PSI, desempenham, em série, as reações de luz da fotossíntese e, associados a um rigoroso transporte de elétrons, realizam uma cooperação altamente coordenada (Lichtenthaler et al., 2005; Taiz & Zeiger, 2010).

Nesse processo de captação de elétrons pelos fotossistemas a partir da fotólise da molécula de H₂O, sob condições de baixa intensidade luminosa e elevados rendimentos quânticos (formação de produtos da fase fotoquímica por número total de fótons absorvidos), aproximadamente 97%

da energia dos fótons absorvidos é utilizada no processo fotoquímico. Assim, para produzir poder redutor (NADPH – nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato) e sintetizar ATP (adenosina trifosfato), que serão utilizados na fase bioquímica da fotossíntese, dos 3% restantes, 2,5% da energia é transformada em calor e 0,5% é reemitida como fluorescência (Hall et al., 1993; Taiz & Zeiger, 2010). Porém, na hipótese de todas as quinonas receptoras de elétrons (Q_A) dos centros de reação estarem reduzidas, 95 a 97% da energia absorvida é dissipada na forma de calor e 3 a 5% na forma de fluorescência (Hall et al., 1993).

Através da análise e interpretação da cinética da fluorescência da clorofila *a*, denominada por vários autores como transiente da fluorescência, é possível obter informações relacionadas à capacidade fotossintética e vitalidade do material vegetal (Strasser et al., 2000).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os transientes da fluorescência da clorofila *a* através de suas variáveis e parâmetros deduzidos (teste-JIP) de folhas de *Atriplex nummularia* cultivada em solo salino-sódico, sob diferentes níveis de disponibilidade de N e P no solo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação na sede da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), localizada na cidade de Recife, Pernambuco. Trabalhou-se com amostra de um Cambissolo Flúvico salino-sódico, coletada no Perímetro Irrigado Cachoeira II, Serra Talhada, Pernambuco, até a profundidade de 30 cm. O solo foi seco ao ar, destorroado, homogeneizado e peneirado em malha de 4 mm, para o ensaio em casa de vegetação e de 2 mm, para caracterização.

No extrato da pasta de saturação determinou-se a condutividade elétrica (CE), o pH e as concentrações de Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} , calculando-se a relação de adsorção de sódio (RAS) (USSLS, 1954) (Quadro 1). Também foram determinadas, no solo, as bases trocáveis (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+}). O fósforo disponível foi determinado pelo método de Olsen (1954) (Quadro 1).

As análises físicas consistiram das determinações das densidades do solo e de partículas, pelos métodos da proveta e do balão volumétrico, respectivamente (EMBRAPA, 1997); a análise granulométrica, pelo método da pipeta adaptado por Ruiz (2005) (Quadro 1); e a curva característica da água do solo, determinada através da câmara de pressão de Richards (Richards & Fireman, 1943) (Figura 1).

Quadro 1. Caracterização do Cambissolo Flúvico salino-sódico utilizado no ensaio

Caracterização do Extrato da Pasta de Saturação ^{1/}						
pH _{ES}	CE _{ES}	Ca _{ES}	Mg _{ES}	K _{ES}	Na _{ES}	RAS
	dS m ⁻¹	cmol _c L ⁻¹				(mmol _c /L) ^{0,5}
8,49	51,88	0,666	0,077	0,062	137,195	711,51
Caracterização Química do Solo						
Ca ^{1/}	Mg ^{1/}	K ^{1/}	Na ^{1/}	PST ^{1/}	P ^{2/}	
cmol _c kg ⁻¹				%	mg dm ⁻³	
7,253	0,702	0,190	13,261	61,95	33,23	
Caracterização Física do Solo						
Areia Grossa ^{3/}	Areia Fina ^{3/}	Silte ^{3/}	Argila ^{3/}	D _P ^{4/}	D _S ^{4/}	
kg kg ⁻¹				kg dm ⁻³		
0,134	0,327	0,424	0,115	2,68	1,24	

^{1/} USSLS (1954). ^{2/} Olsen (1954). ^{3/} Ruiz (2005). ^{4/} D_P e D_S: densidade de partículas e do solo, respectivamente (EMBRAPA, 1997).

Os tratamentos corresponderam a um arranjo fatorial 2 x 5, sendo duas doses de fósforo (P0 e P134, respectivamente 0 e 134 mg dm⁻³) e cinco doses de nitrogênio (0 (N0), 20, 40, 60 e 80 (N80) mg dm⁻³) e foram dispostos segundo um delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições.

As unidades experimentais consistiram de tubos de PVC com 150 mm de diâmetro por 100 cm de altura, com 16,8 dm³ de solo nos 95 cm inferiores. A base da coluna de PVC foi fechada com uma estrutura perfurada para permitir a saturação do solo por ascensão capilar. Os tubos de PVC foram revestidos internamente com parafina e areia fina na tentativa de eliminar o escoamento preferencial pela parede do tubo.

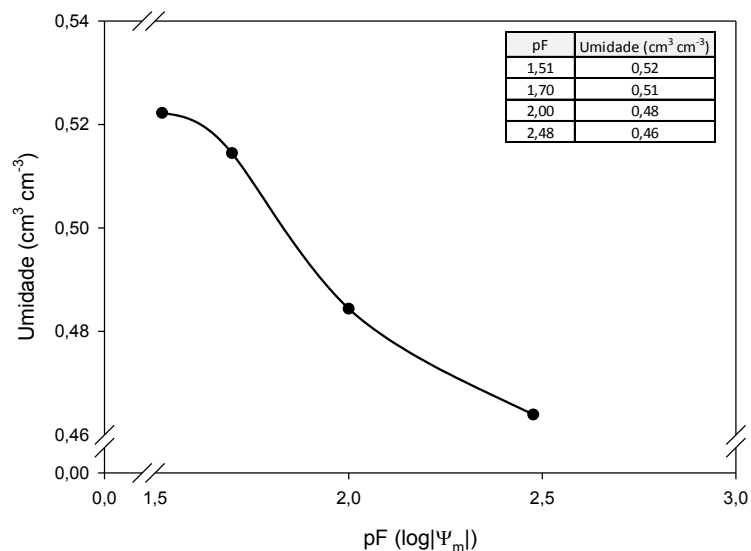


Figura 1. Curva característica da água do solo para os potenciais matriciais de -33 kPa (pF = 1,51), -50 kPa (pF = 1,70), -100 kPa (pF = 2,00) e -300 kPa (pF = 2,48).

Os tratamentos foram aplicados e homogeneizados nos 30 cm superficiais de solo, utilizando-se o sulfato de amônio como fonte de N. Na adubação fosfatada, metade da dose foi aplicada na forma de fosfato monocálcico e a outra metade, na forma de fosfato de potássio. Todas as unidades experimentais receberam S, Ca, Mg e K (80, 65, 11 e 130 mg dm⁻³, respectivamente) de forma a igualar as concentrações desses nutrientes nas diferentes unidades. O S foi aplicado na forma elementar e os cátions, na forma de cloreto. As unidades experimentais também receberam Fe, Cu, Mn e Zn nas doses 3, 2, 5 e 6 mg dm⁻³, respectivamente.

2.1. Condução do experimento

As unidades experimentais foram saturadas colocando as colunas em uma caixa com água, mantendo a altura da água a 90 cm da coluna. Após saturação, as colunas foram retiradas e, por meio de trado tipo rosca, foi colocado um tensiômetro de punção em cada coluna, na profundidade de 30 cm.

A umidade do solo foi monitorada com tensiômetros de punção e, quando atingido o potencial de -20 kPa, transplantou-se uma muda de atriplex, com 60 dias de idade, em cada unidade experimental, mantendo-se esse potencial por 10 dias. A continuação permitiu-se atingir o potencial de

trabalho de -70 kPa. Quando as unidades experimentais alcançaram esse potencial foi estabelecido o tempo zero do experimento. A condutividade elétrica média da água utilizada, obtida a partir de medições semanais, foi de $63,45 \mu\text{S cm}^{-1}$. Oitenta dias após atingido o potencial de -70 kPa realizaram-se as medidas previstas.

2.2. Determinação dos transientes da fluorescência da clorofila a

O transiente da fluorescência OJIP foi medido com um FluorPen FP 100 (Photon Systems Instruments), sendo possível obter a cinética da fluorescência de acordo com as fases O (50 μs), J (2 ms), I (30 ms) e P (500 ms a 1 s). Na impossibilidade de adequar o equipamento com cliques apropriados para adaptar as folhas ao escuro, a medida dos parâmetros relacionados à fluorescência da clorofila a foram realizadas no período noturno (entre 22 e 23 h) e, em conjunto, envolvendo as folhas completamente com papel alumínio durante 20 min. As folhas selecionadas apresentavam bom estado fitossanitário, bem desenvolvidas e presentes no terço médio da planta.

As folhas foram expostas a um pulso saturante de $3.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz, possibilitando obter respostas aos transientes da fluorescência da clorofila a, de acordo com equações do teste-JIP (Strasser et al., 2000).

2.2.1. Utilização do transiente da fluorescência completo: normalização e subtração

Para comparar as amostras de acordo com as fases do transiente da fluorescência, os transientes foram normalizados como fluorescência variável considerando as fases O e J (W_{OJ}): $W_{OJ} = (F_t - F_0)/(F_J - F_0)$ (Strasser & Srivastava, 1995; Strasser et al., 2000).

Em adição, foi calculada a diferença cinética entre os tratamentos utilizados no experimento seguindo a fórmula: $\Delta W_{OJ} = W_{OJ(\text{Dose N})} - W_{OJ(\text{Ref})}$, (“Ref” indica N0 P0 ou N0 P134 e “Dose N” é referente à dose de N no tratamento P0 ou à dose de N no tratamento P134). A diferença cinética revela bandas que são geralmente ocultadas entre as fases do transiente natural. A diferença cinética ΔW_{OJ} revela a banda-K a qual, quando positiva, é considerada como reflexo da inativação do complexo de evolução de

oxigênio (Yusuf et al., 2010) na fase fotoquímica da fotossíntese, levando a um desbalanço entre o fluxo de elétrons vindo para o centro de reação (RC) a partir do lado doador e o fluxo de elétrons partindo do (RC) em direção ao lado acceptor. Está associado com o acúmulo de espécies que produzem elevada fluorescência, agindo como precursor da quinona A reduzida (Q_A^-) (Strasser & Srivastava, 1995; Srivastava et al., 1997).

2.2.2. Equações do teste-JIP

Os parâmetros que regulam o estágio inicial da atividade fotossintética nos centros de reação, sejam eles de razões de fluxo ou de fluxo fenomenológico, obtidos a partir do teste-JIP, estão descritos no quadro 2.

Quadro 2. Parâmetros (Pa) dos transientes da fluorescência da clorofila a e derivados do teste-JIP analisados

Pa	Fórmula	Significado
F_0	$= F_{50\mu s}$	Intensidade da fluorescência a 50 μs
F_J	$= F_{2ms}$	Intensidade da fluorescência na fase J
F_i	$= F_{60ms}$	Intensidade da fluorescência na fase i
F_M		Intensidade de fluorescência máxima
F_V	$= F_V = F_M - F_0$	Fluorescência máxima variável
F_V/F_M		Eficiência máxima do fotossistema II
M_0	$= (TR_0/RC) - (ET_0/RC)$	Taxa líquida de fechamento dos centros de reação
V_J	$= (F_{2ms} - F_0)/(F_M - F_0)$	Fluorescência variável relativa (expressão normalizada)
S_m	$= Area/(F_M - F_0)$	Área entre a curva da fluorescência e F_M normalizada
N	$= S_m \cdot M_0 \cdot (1/V_J)$	Número <i>turnover</i> Q_A
Razões de fluxo (Eficiência quântica)		
TR_0/ABS	$= F_V/F_M$	Rendimento quântico máximo da fotoquímica
ET_0/TR_0	$= 1 - V_J$	Eficiência que um excíton capturado pode mover um elétron da Q_A^- para a cadeia de transporte de elétrons
ET_0/ABS	$= (1 - F_0/F_M) \cdot (1 - V_J)$	Probabilidade de que um fóton absorvido moverá um elétron para a cadeia de transporte de elétrons
Fluxo por Centro de Reação (RC)		
ABS/RC	$= M_0 \cdot (1/V_J) \cdot (1/TR_0/ABS)$	Fótons absorvidos por centro de reação
TR_0/RC	$= M_0 \cdot (1/V_J)$	Taxa pela qual um excíton é capturado pelo centro de reação resultando na redução da Q_A a Q_A^-
ET_0/RC	$= M_0 \cdot (1/V_J) \cdot ET_0/TR_0$	Transporte de elétrons por centro de reação
DI_0/RC	$= (ABS/RC) - (TR_0/RC)$	Fluxo de energia dissipada por centro de reação ativo
Fluxo Fenomenológico		
ABS/CS_0	$= F_0$	Fluxo de absorção fenomenológico
TR_0/CS_0	$= (TR_0/ABS) \cdot (ABS/CS_0)$	Taxa pela qual um excíton é capturado pela secção transversal resultando na redução da Q_A a Q_A^-
ET_0/CS_0	$= (TR_0/ABS) \cdot (ET_0/TR_0) \cdot (ABS/CS_0)$	Transporte de elétrons por secção transversal
DI_0/CS_0	$= (ABS/CS_0) \cdot (TR_0/CS_0)$	Fluxo de energia dissipada por secção transversal
RC/CS_0	$= (TR_0/ABS) \cdot (V_J/M_0) \cdot F_0$	Centros de reação ativos por secção transversal excitada

ABS, Fluxo de fótons absorvidos pela clorofila antena (clorofila do complexo antena); TR_0 , Fluxo de energia capturado para o centro de reação; ET_0 , Transporte de elétrons; RC, Centro de reação; DI_0 , Energia dissipada; CS_0 , Secção transversal excitada; Índice (0) significa tempo zero (início da excitação).

Com os parâmetros foram confeccionados gráficos do tipo radar normalizando os valores de todos os tratamentos sobre os dados do tratamento 0 mg dm^{-3} de N e 0 mg dm^{-3} de P para o intervalo sem aplicação de P e 0 mg dm^{-3} de N e 134 mg dm^{-3} de P para o intervalo com adubação de P.

2.3. Análises estatísticas

Os resultados obtidos foram submetidos a teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov e análise de variância (ANOVA) com $P \leq 0,05$. O programa utilizado foi o Statistica 8.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Análises dos transientes da fluorescência da clorofila *a* pelo teste-JIP

Os transientes da clorofila *a* das folhas de atriplex adaptadas ao escuro estão representados, em escala semilogarítmica a partir de $10 \mu\text{s}$ até 1 s , na Figura 2. Os transientes foram representados considerando a dose de N aplicada para $P = 0 \text{ mg dm}^{-3}$ e $P = 134 \text{ mg dm}^{-3}$.

Todas as curvas apresentaram uma forma típica OJIP, com fluorescência variável máxima similar para todas as doses de N, mostrando que todas as amostras estavam fotossinteticamente ativas.

Com exceção às doses 0 e 60 mg dm^{-3} de N, houve leve redução da fluorescência na fase P para o tratamento sem fósforo e leve redução da fluorescência nas fases J, I e P na folha de atriplex cultivada em solo adubado com P, respectivamente.

É importante destacar os valores absolutos das fluorescências encontrados nas análises dos transientes do teste-JIP para todas as variáveis independentes em estudo. Enquanto foi possível observar neste trabalho valores de fluorescência máxima da ordem de 20.000 u.r. , outras pesquisas têm relatado valores bem inferiores utilizando uma irradiância de mesma intensidade ($3.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Valores de fluorescência máxima da ordem de 2.700 u.r. em folhas de *Brassica juncea* adaptadas ao escuro foram encontradas por Yusuf et al. (2010), 3.500 u.r. por Cuchiara et al. (2013) em folhas de *Alternanthera tenella*, 1.800 u.r. em folhas de *Carapa*

guianensis e *Dipteryx odorata* por Gonçalves et al. (2010), 2.700 u.r. por Srivastava et al. (1997) em folhas de *Pisum sativum*, e Misra et al. (2012) encontraram valores da ordem de 3.500 u.r. em uma folha verde saudável.

As plantas de atriplex cultivadas no Cambissolo Flúvico salino-sódico adubado com diferentes doses de N e P apresentaram uma alteração no ângulo foliar (observação visual) como forma de adaptação às condições de elevada CE do solo e possivelmente alta intensidade luminosa no ambiente de cultivo quando comparadas a plantas cultivadas sob condições de não estresse. Essa mudança na arquitetura da folha influencia significativamente a interceptação da irradiância (Loomis & Williams, 1969; Barnes et al., 1990) e, conseqüentemente, todas as etapas do processo fotossintético.

Em adição, as elevadas fluorescências encontradas nas folhas de atriplex são reflexos da impossibilidade de aproveitamento de boa parte dos fótons que atingem a superfície foliar, auxiliando, sobretudo, na proteção contra a fotoinibição, evitando, desta forma, a destruição de pigmentos fotossintéticos e o surgimento de espécies reativas de oxigênio responsáveis por causar danos à integridade e funcionalidade das células (Lemos Filho, 2000; Dias & Marengo, 2007).

Com isso, possivelmente, a capacidade da halófito em estudo em dissipar o excesso de energia na forma de fluorescência é bem maior comparada às espécies anteriormente citadas, sendo, possivelmente, mais um mecanismo de tolerância da espécie a ambientes afetados por sais.

Não foram observadas diferenças significativas para os dados de fluorescência normalizados entre as fases O ($F_0 = 50 \mu s$) e J ($F_J = 2 ms$), $W_{OJ} = (F_t - F_0)/(F_J - F_0)$, em nenhuma das doses de N aplicadas, seja para àquelas associadas a adubação fosfatada ou sem adubação de P (Figura 3). Por outro lado, a diferença entre as fluorescências variáveis máximas nas fases O e J (ΔW_{OJ}) considerando o tratamento padrão e o possível estresse aplicado, mostrou o aparecimento de uma banda-K, muitas vezes ocultada quando analisado o transiente da fluorescência da clorofila a (OJIP) após a adição de possíveis estresses (Figura 4).

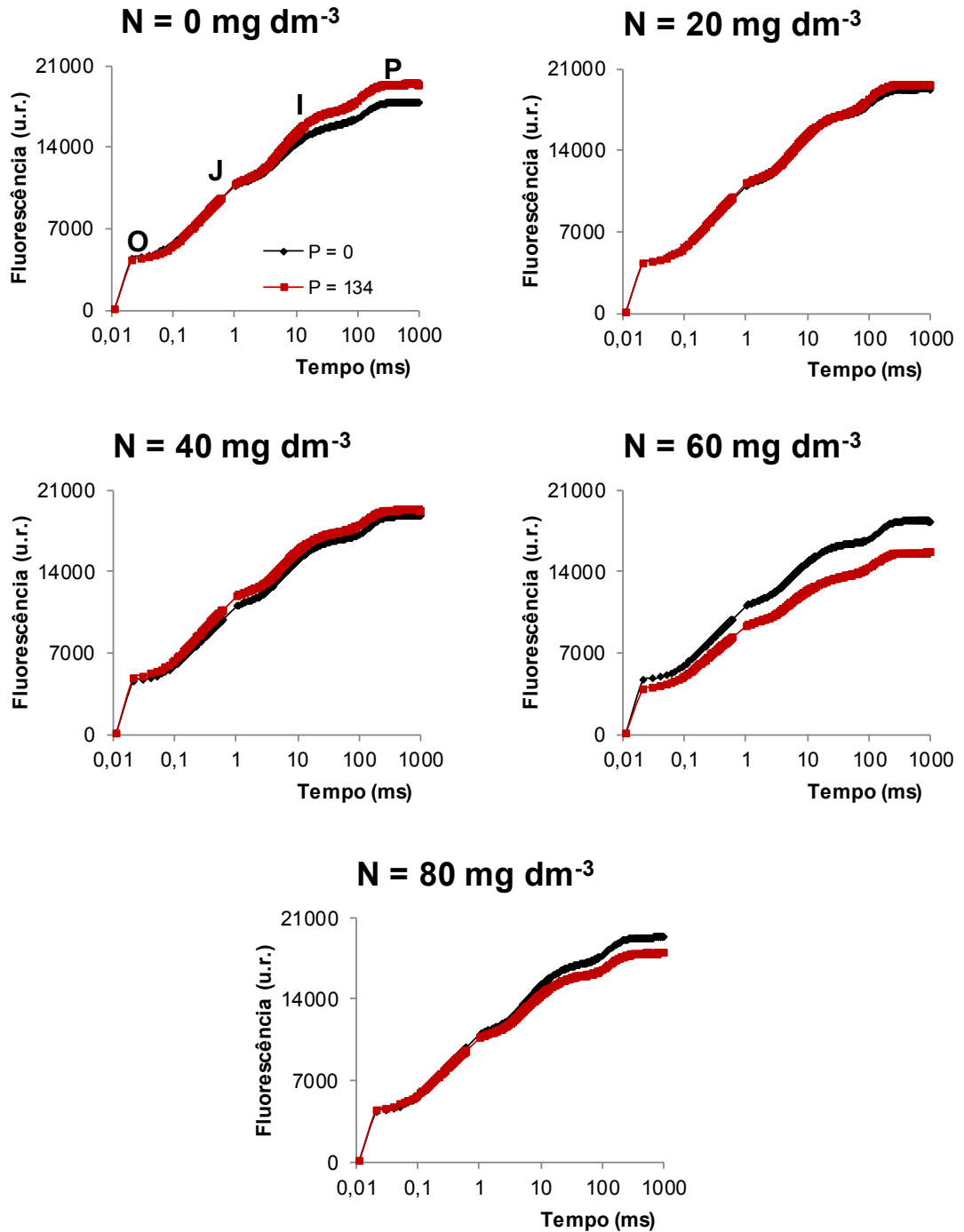


Figura 2. Transientes da fluorescência da clorofila *a* de *A. nummularia*, considerando a dose de N para P = 0 e P = 134 mg dm⁻³. Representação em escala semilogarítmica.

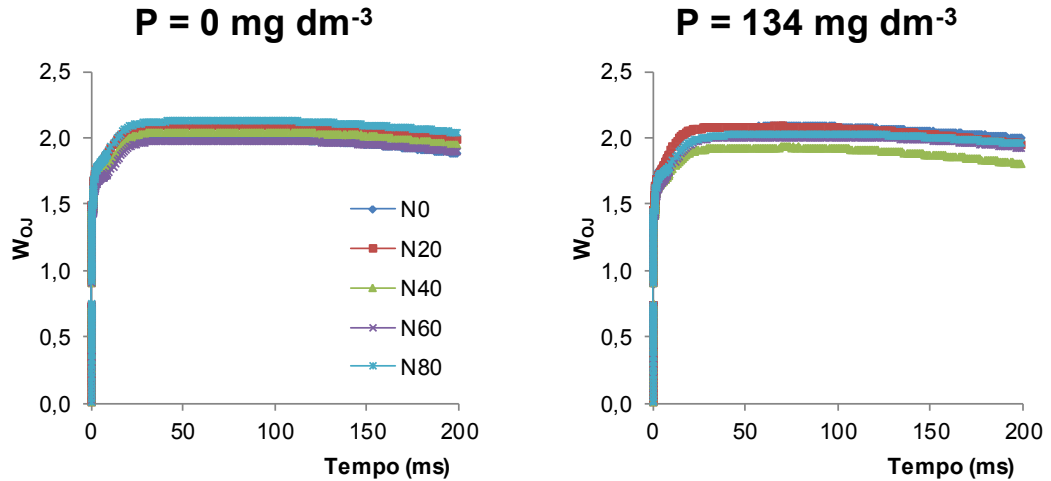


Figura 3. Fluorescência variável relativa da clorofila a entre as fases O e J (W_{OJ}) de folhas de atriplex adaptadas ao escuro, considerando a dose de P para cada dose de N (em mg dm^{-3}).

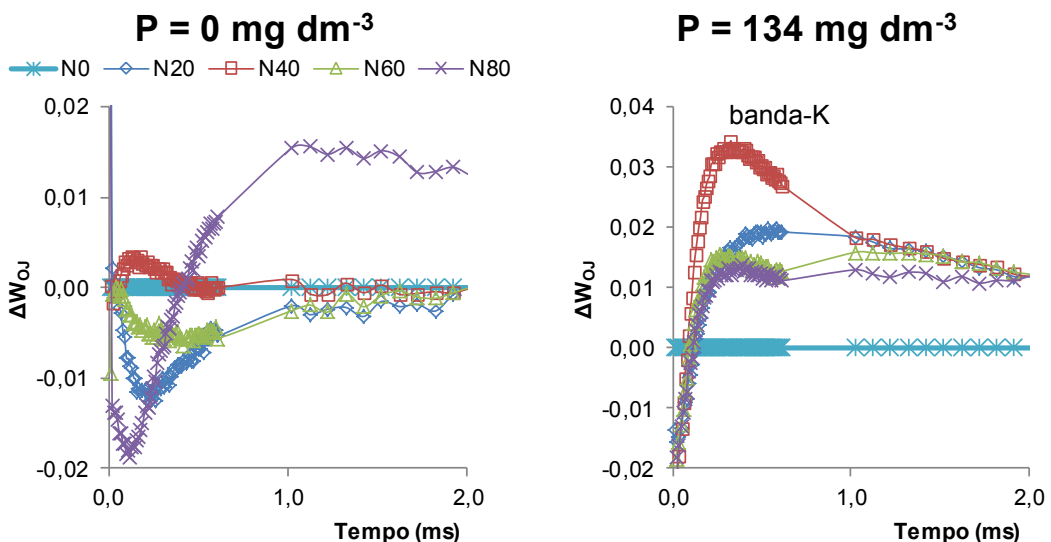


Figura 4. Diferença cinética na curva do transiente da clorofila a normalizada entre as fases O e J (ΔW_{OJ}) mostrando a banda-K, considerando a dose de P para cada dose de N (em mg dm^{-3}).

A elevação da fluorescência da fase O (F_0) à fase J, marcada em 2 ms, fornece informações sobre os eventos de único *turnover* das primeiras reações da fotoquímica, principalmente de redução da Q_A (Oukarroum et al., 2007).

Sendo assim, a diferença cinética na curva do transiente da clorofila a normalizada entre as fases O e J, considerando como tratamento de referência as doses 0 mg dm^{-3} de N e 0 mg dm^{-3} de P para as plantas

cultivadas sem adição de P ($\Delta W_{OJ} = W_{OJ(Dose\ N^*)} - W_{OJ(DoseN0\ P0)}$) e as doses 0 $mg\ dm^{-3}$ de N e 134 $mg\ dm^{-3}$ de P para as plantas cultivadas com adição de P ($\Delta W_{OJ} = W_{OJ(Dose\ N^*)} - W_{OJ(DoseN0\ P134)}$), demonstrou a ocorrência de um desequilíbrio nos eventos iniciais da fase luminosa no processo fotossintético nas plantas que receberam adubação com P (Figura 4). Um desvio positivo, possibilitando o aparecimento da banda-K (Figura 4, P = 134 $mg\ dm^{-3}$), indica uma inativação do complexo de evolução de oxigênio e tem sido exibido em plantas superiores crescendo naturalmente em ambientes quentes e secos (Srivastava et al., 1997), plantas sob estresse severo à seca (Oukarroum et al., 2007) e em plantas transgênicas e tipo selvagem de *Brassica juncea* cultivadas em solução nutritiva sob diferentes concentrações de NaCl, CdCl₂ e manitol (Yusuf et al., 2010).

A banda-K visualizada como consequência do incremento de fósforo pode ter sido influenciada por elevadas concentrações de prótons (H⁺) no lume dos tilacóides. O gradiente de potencial eletroquímico criado entre o estroma e o lume, assim como a quantidade de fósforo disponível para a planta, foram suficientes para sintetizar ATP a partir do complexo ATP sintase, devido, eventualmente, ao acúmulo considerável de P nas folhas da atriplex em função da disponibilidade de P no solo (Quadro 1) e da aplicação via fertilizante. Esse acúmulo de P nas folhas pode ter possibilitado a síntese exagerada de ATP, fornecendo energia em demasia para as plantas. Em consequência disso, houve uma concentração intensa de prótons no lume do tilacóide e o complexo de evolução de oxigênio foi inativado pela desconectividade do fluxo de prótons para a síntese de ATP, ocasionando o aparecimento da banda-K.

De acordo com Strasser (1997), uma banda-K mais pronunciada pode ser explicada por um desbalanço dentro do PSII entre os elétrons doados no lado doador (Y₂) e os elétrons partindo do centro de reação em direção ao lado acceptor e, isto está associado com uma dissociação do complexo de evolução de oxigênio (De Ronde et al., 2004).

O desbalanço na fase inicial do PSII causado pelo excesso de P pode ter sido fator primordial para eventuais reduções em extração de sais pela planta.

As médias das variáveis oriundas da análise dos transientes da fluorescência da clorofila *a*, assim como os parâmetros deduzidos do teste-JIP (Quadro 3), não diferiram estatisticamente pelo teste F com $P \leq 0,05$ considerando a ausência e presença de aplicação fosfatada.

Para cada variável determinada e parâmetro deduzido na análise dos transientes da fluorescência os valores foram normalizados, no qual os tratamentos padrões N0 P0 e N0 P134, foram representados por um polígono regular com parâmetros igual a uma unidade (Figuras 5 e 6).

Os desvios de comportamento em cada caso a partir do polígono regular demonstra um impacto em determinada fase do PSII, comparado aos tratamentos padrões.

Na ausência de aplicação fosfatada, as variáveis S_m e N das diferentes doses de nitrogênio foram as que mais desviaram do tratamento padrão (N0 P0) (Figura 5). Essas variáveis são relacionadas entre si. A variável S_m indica a normalização da área a partir da utilização da variável F_v , sendo utilizada para comparação de diferentes amostras (Strasser et al., 2000). Ela é expressa como $S_m = \text{Area} / (F_M - F_0)$. É uma medida da necessidade de energia para fechar todos os centros de reação. O subscrito m significa que houve um múltiplo *turnover* nos centros de reação fechados. Já o valor N é referente ao número de *turnovers* para as reações de redução, oxidação e re-redução da Q_A do tempo zero até o t_{max} (F_M).

A dose de 60 mg dm^{-3} de N sem aplicação de P reduziu 35 e 24% o S_m e o N, respectivamente, em relação ao tratamento de referência (N0P0) (Figura 5), indicando que menos energia é necessária para fechar os centros de reação e menos processos de redução e oxidação da Q_A são exigidos até que seja atingida a fluorescência máxima. A dose de 40 mg dm^{-3} de N apresentou comportamento similar para o número de *turnover* (N). Leve incremento nas mesmas variáveis em relação ao tratamento padrão foi percebido para a dose máxima de N. Esta mesma dose de N, e a dose de 20 mg dm^{-3} favoreceram um pequeno incremento nos parâmetros de eficiência quântica ET_0/ABS e ET_0/TR_0 , portanto, estas doses foram capazes de aumentar a probabilidade de um fóton absorvido mover um elétron na cadeia de transporte de elétrons e a eficiência com que um elétron armazenado na Q_A entra na cadeia de transporte de elétrons.

Quadro 3. Médias dos parâmetros dos transientes da fluorescência da clorofila a e do teste-JIP, considerando as doses de P e de N aplicadas. Valores entre parênteses indicam proporção com referência a N0, na ausência ou presença de adubação fosfatada

P	N	F ₀ ^{2/}	F _J ^{2/}	F _i ^{2/}	F _M ^{2/}	F _V ^{2/}	V _J ^{2/}	F _V /F _M ^{2/}
—mg dm ⁻³ —								
0	0	4699 (1,00)	11299 (1,00)	15631 (1,00)	17842 (1,00)	13143 (1,00)	0,505 (1,00)	0,735 (1,00)
	20	4489 (0,96)	11050 (0,98)	15913 (1,02)	18448 (1,03)	13959 (1,06)	0,476 (0,94)	0,756 (1,03)
	40	4973 (1,06)	12244 (1,08)	17131 (1,10)	19352 (1,08)	14379 (1,09)	0,487 (0,97)	0,742 (1,01)
	60	4871 (1,04)	11643 (1,03)	16391 (1,05)	18630 (1,04)	13759 (1,05)	0,506 (1,00)	0,738 (1,00)
	80	4671 (0,99)	11523 (1,02)	16608 (1,06)	19263 (1,08)	14591 (1,11)	0,469 (0,93)	0,757 (1,01)
	Média ^{1/}		4741A	11552A	16334A	18707A	13966A	0,489A
134	0	4410 (1,00)	11596 (1,00)	16957 (1,00)	19467 (1,00)	15057 (1,00)	0,477 (1,00)	0,773 (1,00)
	20	4547 (1,03)	11795 (1,02)	16895 (1,00)	19664 (1,01)	15117 (1,00)	0,480 (1,01)	0,769 (0,99)
	40	5178 (1,17)	12500 (1,08)	17129 (1,01)	19310 (0,99)	14132 (0,94)	0,522 (1,10)	0,728 (0,94)
	60	4091 (0,93)	11549 (1,00)	15517 (0,92)	15636 (0,80)	11545 (0,77)	0,524 (1,10)	0,727 (0,94)
	80	4739 (1,07)	11242 (0,97)	15726 (0,93)	17957 (0,92)	13218 (0,88)	0,505 (1,06)	0,727 (0,94)
	Média ^{1/}		4593A	11736A	16493A	18407A	13814A	0,502A

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste F com $P \leq 0,05$.

^{2/} F₀, Intensidade da fluorescência a 50 μs; F_J, Intensidade da fluorescência na fase J; F_i, Intensidade da fluorescência na fase i; F_M, Intensidade de fluorescência máxima; F_V, Fluorescência máxima variável; V_J, Fluorescência variável relativa (expressão normalizada); F_V/F_M, Eficiência máxima do fotossistema II.

(continuação)

Quadro 3. Médias dos parâmetros dos transientes da fluorescência da clorofila *a* e do teste-JIP, considerando as doses de P e de N aplicadas. Valores entre parênteses indicam proporção com referência a N0, na ausência ou presença de adubação fosfatada

P	N	Mo ^{2/}	S _m ^{2/}	N ^{2/}	ET ₀ /TR ₀ ^{2/}	ET ₀ /ABS ^{2/}	DI ₀ /RC ^{2/}	DI ₀ /CS ₀ ^{2/}
—mg dm ⁻³ —								
0	0	1,026 (1,00)	1015326 (1,00)	2041277 (1,00)	0,495 (1,00)	0,365 (1,00)	0,735 (1,00)	1246 (1,00)
	20	0,942 (0,92)	1019007 (1,00)	2228771 (1,09)	0,531 (1,07)	0,401 (1,10)	0,652 (0,89)	1098 (0,88)
	40	1,039 (1,01)	956856 (0,94)	1628443 (0,80)	0,495 (1,00)	0,367 (1,01)	0,717 (0,98)	1285 (1,03)
	60	0,985 (0,96)	664049 (0,65)	1505604 (0,74)	0,506 (1,02)	0,374 (1,03)	0,717 (0,97)	1285 (1,03)
	80	0,941 (0,92)	1116288 (1,10)	2234152 (1,09)	0,531 (1,07)	0,402 (1,10)	0,647 (0,88)	1139 (0,91)
Média ^{1/}		0,987A	954305A	1927649A	0,511A	0,382A	0,693A	1211A
134	0	0,935 (1,00)	839585 (1,00)	1634649 (1,00)	0,524 (1,00)	0,405 (1,00)	0,576 (1,00)	1003 (1,00)
	20	0,969 (1,04)	885112 (1,05)	1784101 (1,09)	0,520 (0,99)	0,400 (0,99)	0,609 (1,06)	1053 (1,05)
	40	1,094 (1,17)	924495 (1,10)	1933264 (1,18)	0,478 (0,91)	0,349 (0,86)	0,795 (1,38)	1413 (1,41)
	60	0,945 (1,01)	1102224 (1,31)	1880479 (1,15)	0,476 (0,91)	0,347 (0,86)	0,805 (1,40)	1295 (1,29)
	80	1,012 (1,08)	981628 (1,17)	1986287 (1,22)	0,495 (0,95)	0,364 (0,90)	0,772 (1,34)	1304 (1,30)
Média ^{1/}		0,991A	946609A	1843756A	0,498A	0,373A	0,711A	1214A

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste F com $P \leq 0,05$.

^{2/} Mo, Taxa líquida de fechamento dos centros de reação; S_m, Área entre a curva da fluorescência e FM normalizada; N, Número turnover Q_A; ET₀/TR₀, Eficiência que um excíton capturado pode mover um elétron da Q_A⁻ para a cadeia de transporte de elétrons; ET₀/ABS, Probabilidade de que um fóton absorvido moverá um elétron para a cadeia de transporte de elétrons; DI₀/RC, Fluxo de energia dissipada por centro de reação ativo; DI₀/CS₀, Fluxo de energia dissipada por secção transversal.

(continuação)

Quadro 3. Médias dos parâmetros dos transientes da fluorescência da clorofila *a* e do teste-JIP, considerando as doses de P e de N aplicadas. Valores entre parênteses indicam proporção com referência a N0, na ausência ou presença de adubação fosfatada

P	N	TR ₀ /CS ₀ ^{2/}	ET ₀ /CS ₀ ^{2/}	RC/CS ₀ ^{2/}	ET ₀ /RC ^{2/}	TR ₀ /RC ^{2/}	ABS/RC ^{2/}	ABS/CS ₀ ^{2/}	TR ₀ /ABS ^{2/}
—mg dm ⁻³ —									
0	0	3453 (1,00)	3,11E+15 (1,00)	1700 (1,00)	1,005 (1,00)	6,801 (1,00)	2,766 (1,00)	4699 (1,00)	0,735 (1,00)
	20	3392 (0,98)	3,80E+15 (1,22)	1691 (0,99)	1,065 (1,06)	6,333 (0,93)	2,659 (0,96)	4489 (0,96)	0,756 (1,03)
	40	3688 (1,07)	4,09E+15 (1,31)	1797 (1,06)	1,016 (1,01)	7,302 (1,07)	2,771 (1,00)	4973 (1,06)	0,742 (1,01)
	60	3586 (1,04)	4,24E+15 (1,36)	1799 (1,06)	1,007 (1,00)	6,344 (0,93)	2,709 (0,98)	4871 (1,04)	0,738 (1,00)
	80	3532 (1,02)	4,71E+15 (1,51)	1762 (1,04)	1,063 (1,06)	6,344 (0,93)	2,650 (0,96)	4671 (0,99)	0,757 (1,03)
	Média ^{2/}	3530A	3,99E+15A	1750A	1,031A	6,625A	2,711A	4741A	0,746A
134	0	3407 (1,00)	3,68E+15 (1,00)	1738 (1,00)	1,025 (1,00)	5,702 (1,00)	2,535 (1,00)	4410 (1,00)	0,773 (1,00)
	20	3493 (1,03)	3,94E+15 (1,07)	1731 (1,00)	1,051 (1,03)	6,602 (1,16)	2,628 (1,04)	4547 (1,03)	0,769 (0,99)
	40	3764 (1,10)	4,16E+15 (1,13)	1798 (1,03)	1,001 (0,98)	7,911 (1,39)	2,889 (1,14)	5178 (1,17)	0,728 (0,94)
	60	2996 (0,88)	3,02E+15 (0,82)	1571 (0,90)	0,934 (0,91)	8,480 (1,49)	2,570 (1,01)	4091 (0,93)	0,727 (0,94)
	80	3435 (1,01)	3,59E+15 (0,98)	1712 (0,98)	0,994 (0,97)	6,338 (1,11)	2,779 (1,10)	4739 (1,07)	0,727 (0,94)
	Média ^{2/}	3419A	3,68E+15A	1710A	1,001A	7,007A	2,680A	4593A	0,746A

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste F com $P \leq 0,05$.

^{2/} TR₀/CS₀, Taxa pela qual um excíton é capturado pela secção transversal resultando na redução da Q_A a Q_A⁻; ET₀/CS₀, Transporte de elétrons por secção transversal; RC/CS₀, Centros de reação ativos por secção transversal excitada; ET₀/RC, Transporte de elétrons por centro de reação; TR₀/RC, Taxa pela qual um excíton é capturado pelo centro de reação resultando na redução da Q_A a Q_A⁻; ABS/RC, Fótons absorvidos por centro de reação; ABS/CS₀, Fluxo de absorção fenomenológico; TR₀/ABS, Rendimento quântico máximo da fotoquímica.

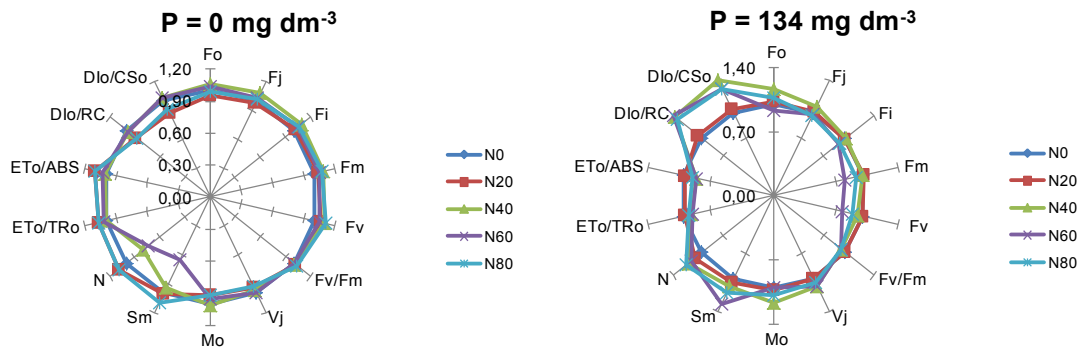


Figura 5. Parâmetros deduzidos da análise dos transientes da fluorescência da clorofila *a* e do teste-JIP, considerando as doses de P e de N aplicadas (em mg dm^{-3}). Valores calculados tomando como referência a dose N0, na ausência ou presença de adubação fosfatada.

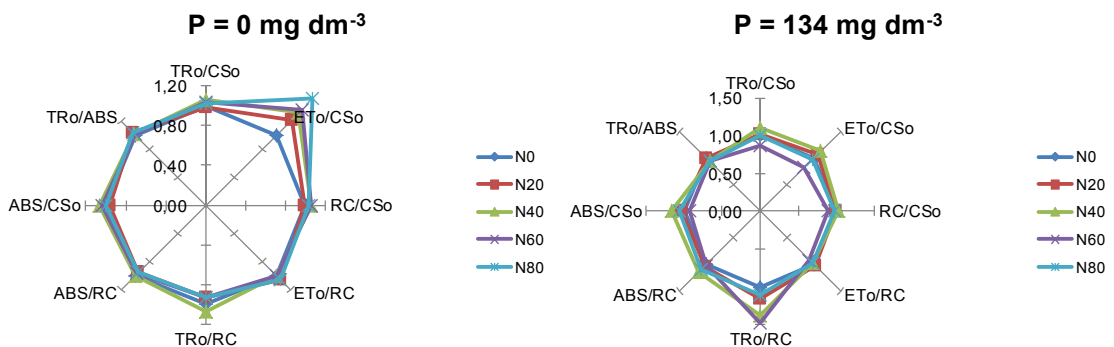


Figura 6. Outros parâmetros deduzidos da análise dos transientes da fluorescência da clorofila *a* e do teste-JIP, considerando as doses de P e de N aplicadas (em mg dm^{-3}). Valores calculados tomando como referência a dose N0, na ausência ou presença de adubação fosfatada.

Redillas et al. (2011) observaram redução, em relação à testemunha, nestes dois parâmetros em plantas de *Oryza sativa* submetidas a deficiência de nitrogênio. Os autores associaram o ajuste na cadeia transportadora de elétrons como uma resposta da planta da sua capacidade de diminuir a utilização de ATP e NADPH gerados nas reações fotoquímicas primárias para coincidir com a demanda de energia e poder redutor pelo metabolismo do carbono.

A maior dose de N, assim como 20 mg dm⁻³ de N, apresentaram reduções nos valores relativos de DI_0/CS_0 e DI_0/RC , ou seja, houve menor dissipação total de energia através de calor, fluorescência ou transferência de energia para outros sistemas, por secção transversal (contém centros de reação ativos e inativos) e por centros de reação ativos.

As outras variáveis, considerando a dose $P = 0$ mg dm⁻³, pouco desviaram do tratamento 0 e 0 mg dm⁻³ de N e P (Figura 5), respectivamente.

Maiores desvios nas variáveis dos transientes da fluorescência da clorofila *a* das doses de N utilizadas em relação ao tratamento de referência (N0P134) foram encontrados quando aplicados 134 mg dm⁻³ de P (Figura 5).

Excetuando a dose de 20 mg dm⁻³ de N, que se comportou semelhantemente ao tratamento padrão, todas as outras doses sofreram leves desvios nas variáveis estudadas. Quando analisados os parâmetros DI_0/CS_0 e DI_0/RC esses desvios foram mais acentuados. Isso indica a ocorrência de um efeito estressante causado pelo excesso de P nas plantas, como apontado anteriormente. Foi uma resposta da planta para evitar uma possível fotoinibição ou até mesmo a formação de espécies reativas de oxigênio.

A dissipação de energia aumentada devido ao incremento de N no solo pode ter relação com a fonte amoniacal de N utilizada. A assimilação de amônio envolve a liberação de prótons (Kirkby, 1968; Raven & Smith, 1976). Ou seja, concomitantemente ao processo de formação de gradiente de potencial eletroquímico na fase de captação de energia luminosa no processo fotossintético, há um incremento de prótons que pode fazer com que os elétrons reajam com o oxigênio (gerando espécies reativas e podendo ocasionar danos às células) ou com a própria clorofila, causando fotoinibição. Como forma de adaptação, a planta aumenta a dissipação de energia nas formas de fluorescência, calor ou transfere a energia para outros sistemas, evitando os possíveis danos.

Aumentos nos valores relativos de S_m e N também foram visualizados com o incremento das doses de nitrogênio nos solos adubados com fósforo (Figura 5). Foi maior a energia necessária para fechar todos os centros de reação sob múltiplos *turnover* e maior foi o número de *turnover* no processo

de redução e oxidação da Q_A a partir da fluorescência inicial até alcançar a fluorescência máxima.

A cadeia de transporte de elétrons foi mais eficiente quando houve incrementos de nitrogênio no solo sem adubação de P (Figura 6). A reoxidação da Q_A reduzida via transporte de elétrons por secção transversal (ET_0/CS_0) foi superior ao tratamento padrão sob condições de maior disponibilidade de N. Terashima & Evans (1988) mostraram que a nutrição nitrogenada afeta a quantidade de tilacóides por unidade de área foliar e Lu & Zhang (2000) mostraram que deficiência de N induz modificações na fotoquímica do PSII em plantas de milho. Estes resultados sugerem que o aumento da disponibilidade de N pode induzir um balanço mais equilibrado nos processos de captação e transporte de energia durante a fotossíntese, possibilitando que a planta se desenvolva de forma mais eficiente.

O transporte de elétrons por secção transversal (ET_0/CS_0) na dose 60 $mg\ dm^{-3}$ com adubação fosfatada (Figura 6) diminuiu em consequência, possivelmente, do incremento de P, ocasionando a inativação de alguns centros de reação, redução de RC/CS_0 , aqui devido à inativação do complexo de evolução de oxigênio, e em função disso, aumentou a taxa máxima de armazenamento por centro de reação (TR_0/RC).

Para a dose 40 $mg\ dm^{-3}$ de N associada a 134 $mg\ dm^{-3}$ de P a TR_0/RC aumentou em relação ao tratamento padrão, neste caso, o aumento está associado ao incremento de absorção de fótons por secção transversal (ABS/CS_0). Os outros parâmetros avaliados pouco desviaram do tratamento de referência quando da aplicação de P (Figura 6).

4. CONCLUSÕES

- A análise dos transientes da fluorescência da clorofila *a* e do teste-JIP em folhas de *Atriplex nummularia* adaptadas ao escuro foi eficiente na identificação de alterações no aparato fotossintético da planta em condições de fertilização nitrogenada e fosfatada.
- A avaliação da cinética das fluorescências variáveis máximas foi fundamental para visualizar a formação da banda-K relacionada a alterações nas fases iniciais de redução da Q_A no PSII,

especificamente na inativação do complexo de evolução do oxigênio, quando aplicados fertilizantes fosfatados, indicativo de que excesso deste nutriente em atriplex influencia negativamente os processos de absorção de energia luminosa e, conseqüentemente, altera o balanço energético necessário ao perfeito funcionamento da fotossíntese.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAKER, N.R. Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59:89-113, 2008.
- BARNES, P.W.; BEYSCHLAG, W.; RYEL, R.; FLINT, S.D. & CALDWELL, M.M. Plant competition for light analyzed with a multispecies canopy model. *Oecologia*, 82:560–566, 1990.
- BUSSOTTI, F.; NALI, C. & LORENZINI, G. Chlorophyll fluorescence: from theory to (good) practice. An introduction. *Environ. Exp. Bot.* 73:1-2, 2011.
- CUCHIARA, C.C.; SILVA, I.M.C.; MARTINAZZO, E.G.; BRAGA, E.J.B.; BACARIN, M.A. & PETERS, J.A. Chlorophyll fluorescence transient analysis in *Alternanthera tenella* Colla plants grown in nutrient solution with different concentrations of copper. *J. Agric. Sci.*, 5:1-8, 2013.
- DE RONDE, J.A.; CRESS, W.A.; KRÜGER, G.H.J.; STRASSER, R.J. & van STADEN, J. Photosynthetic response of transgenic soybean plants, containing an Arabidopsis P5CR gene, during heat and drought stress. *J. Plant Physiol.*, 161:1211–1224, 2004.
- DIAS, D.P. & MARENCO, R.A. Fotossíntese e fotoinibição em mogno e acariquara em função da luminosidade e temperatura foliar. *Pesq. Agropec. Bras.*, 42:305–311, 2007.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Manual de métodos de análise de solo. 2.ed. Rio de Janeiro, Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 1997. 212p.
- GONÇALVES, J.F.C; SILVA, C.E.; GUIMARÃES, D.G. & BERNARDES, S. Análise dos transientes da fluorescência da clorofila *a* de plantas jovens

- de *Carapa guianensis* e de *Dipteryx odorata* submetidas a dois ambientes de luz. *Acta Amazonica*, 40:89-98, 2010.
- GORBE, E. & CALATAYUD, A. Applications of chlorophyll fluorescence imaging technique in horticultural research: A review. *Sci. Hortic.* 138:24-35, 2012.
- HALL, D.O.; SCURLOCK, J.M.O.; BOLHÀR-NORDENKAMPF, H.R.; LEEGOOD, R.C. & LONG, S.P. Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual. London, Chapman & Hall, 1993. 193p.
- KIRKBY, E.A. Influence of ammonium and nitrate nutrition on the cation-anion balance and nitrogen and carbohydrate metabolism of white mustard plants grown in dilute nutrient solutions. *Soil Sci*, 105:133–141, 1968.
- LEMOS FILHO, J.P.D. Photoinhibition in three “cerrado” species (*Annona crassifolia*, *Eugenia dysenterica* e *Campomanesia adamantium*), in the dry and rainy seasons. *Braz. J. Bot.*, 23:45–50, 2000.
- LICHTENTHALER, H.K.; BUSCHMANN, C. & KNAPP, M. How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio Rfd of leaves with the PAM fluorometer. *Photosynthetica* 43: 379-393, 2005.
- LOOMIS, R.S. & WILLIAMS, W.A. Productivity and the morphology of crop stands: patterns with leaves. Lincoln, University of Nebraska, 1969. 59p.
- LU, C. & ZHANG, J. Photosynthetic CO₂ assimilation, chlorophyll fluorescence and photoinhibition as affected by nitrogen deficiency in maize plants. *Plant Sci.*, 151:135–143, 2000.
- MAXWELL, K. & JOHNSON, G.N. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *J. Exp. Bot.*, 51: 659-668, 2000.
- MISRA, A.N.; MISRA, M & SINGH, R. Chlorophyll fluorescence in plant biology. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/biophysics/chlorophyll-fluorescence-in-plant-biology>>. Acesso em 25 set. 2013.

- OLSEN, S.R.; COLE, C.V.; WATANABE, F.S. & DEAN, L.A. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. Washington, USDA, 1954. (USDA Circ., 939)
- OUKARROUM, A.; MADIDI, S.E.; SCHANSKER, G. & STRASSER, R.J. Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll *a* fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. *Environ. Exp. Bot.*, 60:438–446, 2007.
- RAVEN, J.A. & SMITH, F.A.. Nitrogen assimilation and transport in vascular land plants in relation to intracellular pH regulation. *New Phytol.*, 76:415–431, 1976.
- REDILLAS, M.C.F.R.; JEONG, J.S.; STRASSER, R.J.; KIM, Y.S. & KIM, J.-K. JIP analysis on rice (*Oryza sativa* cv Nipponbare) grown under limited nitrogen conditions. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, 54:827–832, 2011.
- RICHARDS, L.A. & FIREMAN, M. Pressure-plate apparatus for measuring moisture sorption and transmission by soils. *Soil Sci.*, 56:394–404, 1943.
- RUIZ, H.A. Incremento da exatidão da análise granulométrica do solo por meio da coleta da suspensão (silte+argila). *R. Bras. Ci. Solo*, 29:297-300, 2005.
- SRIVASTAVA, A.; GUISSÉ, B.; GREPPIN, H. & STRASSER, R.J. Regulation of antenna structure and electron transport in photosystem II of *Pisum sativum* under elevated temperature probed by the fast polyphasic chlorophyll *a* fluorescence transient: OKJIP. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Bioenerg.*, 1320:95–106, 1997.
- STRASSER, B.J. Donor side capacity of photosystem II probed by chlorophyll *a* fluorescence transients. *Photosynth. Res.*, 52:147–155, 1997.
- STRASSER, R.J; SRIVASTAVA, A. & TSIMILLI-MICHAEL, M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: YUNUS, M., PATHRE, U. & MOHANTY, P. eds. *Probing photosynthesis: mechanism, regulation and adaptation*. London, Taylor & Francis, 2000. p.445-483.

- STRASSER, R.J. & SRIVASTAVA, A. Polyphasic chlorophyll *a* fluorescence transient in plants and cyanobacteria*. *Photochem. Photobiol.*, 61:32–42, 1995.
- TAIZ, L. & ZEIGER, E. *Plant physiology*. 5.ed. Sunderland, Sinauer, 2010. 782p.
- TERASHIMA, I. & EVANS, J.R. Effects of light and nitrogen nutrition on the organization of the photosynthetic apparatus in spinach. *Plant Cell Physiol.*, 29:143–155, 1988.
- United States Salinity Laboratory Staff - USSLS. *Diagnosis and improvement of saline and alkali soils*. Washington, DC, United States Department of Agriculture, 1954. 160p. (Agriculture Handbook No. 60)
- YUSUF, M.A.; KUMAR, D.; RAJWANSHI, R.; STRASSER, R.J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; GOVINDJEE & SARIN, N.B. Overexpression of gamma-tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: physiological and chlorophyll *a* fluorescence measurements. *Biochim. Biophys. Acta*, 1797:1428–1438, 2010.

CAPÍTULO 2

RELAÇÕES HÍDRICAS E ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM *Atriplex nummularia* CULTIVADA EM SOLO SALINO-SÓDICO ADUBADO COM NITROGÊNIO E FÓSFORO

RESUMO

As alterações climáticas têm sido o foco de pesquisas em todas as partes do mundo. Mudanças na concentração de CO₂, temperatura e água disponível influenciarão sobremaneira no comportamento das espécies vegetais. As plantas terão seu metabolismo fotossintético afetado, podendo alterar positiva ou negativamente as espécies C₃, C₄ ou CAM. Estudos mais conclusivos em espécies tolerantes a sais e déficit hídrico são de extrema importância para obtenção de informações relevantes quanto aos aspectos fisiológicos da planta. O objetivo foi avaliar o status hídrico da *Atriplex nummularia* cultivada em solo salino-sódico fertilizada com nitrogênio e fósforo, e a condutância estomática (g_s), bem como, enzimas do estresse oxidativo e proteína solúvel nas folhas. O desenho experimental foi constituído por um arranjo fatorial 2 x 5, correspondendo a duas doses de P (0 e 134 mg dm⁻³) e cinco doses de N (0, 20, 40, 60 e 80 mg dm⁻³), dispostos em blocos casualizados com quatro repetições. Mudanças foram transplantadas com 60 dias de idade e monitoradas sob baixa disponibilidade hídrica no solo (-70 kPa) por 80 dias. A g_s foi medida em quatro períodos ao longo do dia, além de uma medição horária das 6 às 22 h. O potencial hídrico total foi medido no horário de obtenção de máximo turgor da planta. Folhas foram coletadas no mesmo horário para determinação do potencial osmótico da seiva. Também foram coletadas folhas e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido para determinação da atividade da catalase, peroxidase do ascorbato e teores de proteína solúvel. Os dados foram submetidos à análise de variância com $P \leq 0,05$. A condutância estomática realizada no período das 21 às 22 h foi superior na presença de aplicação fosfatada. A g_s medida a cada hora do dia das 6 às 22 h foi menor na maior dose de N. O potencial de pressão foi maior quando aplicado P, influenciando no aumento do

potencial hídrico total da planta. A redução da condutância estomática no período diurno nas plantas condicionadas a adubação nitrogenada é indicativa do ajuste da halófita em suportar os elevados níveis de sais e a baixa disponibilidade hídrica. A adição de N é efetiva na redução da condutância estomática, favorecendo a tolerância ao déficit hídrico.

Palavras-chave: condutância estomática, metabolismo fotossintético, potencial hídrico

ABSTRACT

Climate change has been the focus of research in all parts of the world. Changes in CO₂ concentration, temperature and water availability greatly influence the behavior of plant species. The plants have affected their photosynthetic metabolism and may alter positively or negatively the C₃, C₄ and CAM species. More conclusive studies on salt tolerant and drought species are extremely important to obtain relevant information about the physiological aspects of the plant. The objective was to assess the water status of *Atriplex nummularia* grown on saline- sodic soil fertilized with nitrogen and phosphorus, and stomatal conductance (g_s), as well as enzymes of oxidative stress and soluble protein in the leaves. The experimental design was composed of a 2 x 5 factorial arrangement, corresponding to two P levels (0 and 134 mg dm⁻³) and five N rates (0, 20, 40, 60 and 80 mg dm⁻³), arranged randomized blocks with four replications. Seedlings were transplanted at 60 days of age and monitored under low water availability in the soil (-70 kPa) for 80 days. The g_s was measured in four periods throughout the day, plus an hourly measurement from 6 to 22 h. The total water potential was measured at the time of obtaining maximum plant turgor. Leaves were collected at the same time to determine the osmotic potential of the sap. Leaves were also collected and immediately frozen in liquid nitrogen for determination of catalase, ascorbate peroxidase and levels of soluble protein activity. Data were subjected to analysis of variance with $P \leq 0.05$. The stomatal conductance made in the period from 21 to 22 h was higher in the presence of phosphate application. The g_s measured every hour of the day from 6 to 22 h was lower at the highest dose of N. The pressure potential was greater when applied P, influencing the increase in total plant water potential. The reduction in stomatal conductance during daytime in plants conditioned to nitrogen fertilization is indicative of adjustment halophyte in supporting high levels of salts and low water availability. Nitrogen addition is effective in reducing stomatal conductance, favoring tolerance to water deficit.

Key words: stomatal conductance, photosynthetic metabolism, water potential

1. INTRODUÇÃO

O Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (IPCC, 2013) aponta a influência humana nas alterações climáticas evidenciadas na maioria das regiões do planeta. Ainda, de acordo com a organização, que as mudanças climáticas afetam, entre outros, os processos relacionados ao ciclo do carbono, tendo como resultado o aumento de CO₂ na atmosfera. Essas mudanças terão reflexo, sobretudo, nas gerações futuras, considerando os impactos na distribuição das chuvas, nas oscilações da temperatura, na elevação do nível do mar e na salinização da água e dos solos (Gondim et al., 2010).

As plantas respondem diretamente ao aumento da concentração de CO₂ atmosférico através da fotossíntese e da condutância estomática (Long et al., 2006), respostas altamente dependentes da temperatura (Ziska & Bunce, 1997). Neste contexto, alguns pesquisadores têm relatado que incrementos na concentração de CO₂ aumentam a eficiência do uso da água tanto em plantas com metabolismo fotossintético tipo C₃ quanto C₄ (Apel & Peisker, 1988; Uliarte et al., 2013).

No entanto, nas condições atuais de temperatura e concentração de CO₂, as plantas C₄ possuem maior eficiência do uso da água em comparação às plantas C₃ (Taiz & Zeiger, 2010). Pesquisas relacionadas aos aspectos fisiológicos, como o status hídrico e a condutância estomática em espécies vegetais tolerantes a ambientes de semi-aridez, podem trazer informações relevantes do ponto de vista de mudanças climáticas.

Em especial a halófito atriplex (*Atriplex nummularia*), conhecida tipicamente como planta C₄, quando cultivada sob condições de baixa disponibilidade hídrica e fertilizada com nitrogênio e fósforo, poderá gerar informações úteis para o entendimento dos possíveis ajustes regulatórios realizados pela planta para suportar determinados estresses.

Para estudar o status hídrico na planta considera-se o potencial hídrico total (Ψ_T), que pode ser dividido nos componentes osmótico (Ψ_{OS}), de pressão de turgor (Ψ_P), mátrico (Ψ_m) e gravitacional (Ψ_g). O componente gravitacional é geralmente negligenciado pois é da ordem de 0,01 MPa por cada metro de distância na vertical (Turner, 1981); porém, deveria ser

considerado em árvores muito altas (Connor et al., 1977). O Ψ_m ocorre a nível celular, sendo também negligenciado (Taiz & Zeiger, 2010).

As plantas halófitas são extremamente eficientes em ajustar-se osmoticamente via acúmulo ou compartimentalização de solutos (Silveira et al., 2009), possibilitando a diminuição do seu potencial osmótico e, conseqüentemente, o potencial hídrico total na planta em função das elevadas concentrações de sais. Dentro desse ajustamento, há produção de solutos compatíveis (glicina, glicinabetaína, prolina, entre outros), que são aminoácidos constituintes das proteínas.

Esses solutos, em alta concentração, têm sido propostos como agentes protetores contra danos oxidativos às células (Martinez et al., 2004), atuando em contribuição às enzimas responsáveis por diminuir o efeito danoso de espécies reativas de oxigênio (ERO).

As ROS são continuamente produzidas como subprodutos de diversas rotas metabólicas localizadas em diferentes compartimentos celulares, sendo encontradas, predominantemente, em mitocôndrias e cloroplastos. Essas organelas apresentam atividades metabólicas altamente oxidantes e, ou, com intensa taxa de fluxo de elétrons (Apel & Hirt, 2004).

O objetivo desta pesquisa foi avaliar a condutância estomática, os potenciais hídricos, as enzimas do estresse oxidativo (catalase e peroxidase do ascorbato) e as proteínas solúveis em plantas de atriplex cultivadas em solo salino-sódico, em resposta a doses de nitrogênio, na ausência e na presença de adubação fosfatada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo, realizado com atriplex como planta-teste, foi desenvolvido em casa de vegetação com amostra de um Cambissolo Flúvico salino-sódico, coletada no Perímetro Irrigado Cachoeira II, Serra Talhada, Pernambuco.

Os tratamentos corresponderam a um arranjo fatorial 2 x 5, sendo duas doses de fósforo (0 e 134 mg dm⁻³, respectivamente P0 e P134) e cinco doses de nitrogênio (0, 20, 40, 60 e 80 mg dm⁻³, respectivamente N0, N20, N40, N60

e N80) e foram dispostos segundo um delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições.

O experimento foi instalado e conduzido conforme metodologia descrita (Capítulo 1). Oitenta dias após atingir o potencial de -70 kPa, em 14 de novembro de 2012, iniciaram-se as medições previstas. Os materiais utilizados nessas determinações foram retirados do terço médio das plantas de atriplex.

A condutância estomática foi medida, em todas as unidades experimentais, em quatro horários ao longo do dia: entre as 6 e 7 h, entre as 12 e 13 h, entre as 17 e 18 h e entre as 22 e 23 h. As medições foram realizadas sempre na mesma folha de cada planta.

Ao dia seguinte foi mensurada a condutância estomática das 6 h às 22 h, a cada hora. Essa determinação foi realizada nas quatro repetições, mas restrita aos tratamentos N0P0 e N80P0. Na oportunidade, registrou-se também a temperatura foliar.

As condutâncias estomáticas e a temperatura foram determinadas com um porômetro, Decagon Devices, modelo SC-1.

Um dia após a finalização das medições da condutância estomática determinou-se o potencial hídrico na planta, utilizando uma Câmara de Scholander, PMS Instruments, modelo 1515D. As medições foram realizadas utilizando ramos apicais de aproximadamente 15 cm, entre as 3:45 h e 5:00 h da manhã, horário em que a planta apresentou o máximo turgor. A umidade relativa do ar e a temperatura ficaram entre 76 e 78% e 24,2 e 26,7°C, para o início e o fim das medições, respectivamente.

Ao mesmo tempo foram coletadas folhas que, armazenadas em freezer, foram utilizadas posteriormente para a determinação do potencial osmótico da seiva da planta. Para obtenção da seiva, as folhas frescas foram maceradas em nitrogênio líquido, com auxílio de um almofariz. A continuação, o material macerado foi envolvido em um tecido fino e colocado em uma seringa hipodérmica para obtenção do exsudado foliar. O extrato foliar foi obtido através da centrifugação a 10.000 g por 10 min a 4°C. O potencial osmótico no extrato foliar foi determinado em microosmômetro, marca Wescor, modelo 5600. Com os dados de potencial hídrico total e do

potencial osmótico calculou-se, por diferença, o potencial de pressão na planta.

Por fim, foram coletadas e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido folhas do terço médio, completamente desenvolvidas de todas as plantas cultivadas para determinação dos teores de proteína solúvel (Bradford, 1976), atividade da enzima catalase (CAT) (Havir & McHale, 1987) e atividade da enzima peroxidase do ascorbato (APX) (Nakano & Asada, 1981).

Os teores de proteína solúvel foram determinados coletando-se alíquotas de 20 µL do mesmo extrato enzimático utilizado para determinação da atividade da APX (Nakano & Asada, 1981), 0,08 mL de tampão fosfato de potássio e 2,0 mL do reagente de Bradford. Após 5 min em temperatura ambiente foram feitas leituras em espectrofotômetro UV-VIS, a 595 nm. A concentração de proteínas solúveis foi calculada com base em uma curva padrão ajustada a partir de concentrações crescentes de albumina soro bovino (BSA).

A atividade da CAT foi determinada pela adição de 50 µL do extrato enzimático (Havir & McHale, 1987) a 1,45 mL de uma solução contendo H₂O₂ (20% em volume) e tampão fosfato de potássio (50 mmol L⁻¹) pH = 7,0. A absorvância foi medida a 240 nm, usando espectrofotômetro UV-VIS.

A atividade da APX foi determinada mediante a adição de 25 µL do extrato enzimático (Nakano & Asada, 1981) ao meio de reação constituído por 1,4 mL de tampão fosfato de potássio (50 mmol L⁻¹) pH = 6,0 e de ácido L-ascórbico (0,5 mmol L⁻¹). A absorvância foi medida em espectrofotômetro a 290 nm.

Retiradas essas amostras, as folhas foram coletadas e colocadas para secar em estufa de circulação forçada de ar a 65°C para quantificação da matéria seca. O conteúdo de proteína solúvel foi calculado multiplicando seu teor pela produção de matéria seca de folhas.

2.1. Análises estatísticas

Os resultados obtidos foram submetidos a teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov, análise de variância (ANOVA) pelo teste F com $P < 0,05$ e análise de regressão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Condutância estomática e potenciais hídricos na planta

Os resultados da condutância estomática, medida em todas as unidades experimentais, em quatro horários ao longo do dia: entre as 6 e 7 h, as 12 e 13 h, as 17 e 18 h e as 22 e 23 h são apresentados no Quadro 1.

Posteriormente, para detalhar a condutância estomática em períodos horários, das 6 h às 22 h, foram analisadas plantas de atriplex crescidas nos tratamentos P0N0 e P0N80 (Quadro 2).

Na sequência, determinou-se o potencial hídrico (Ψ_T), o potencial osmótico (Ψ_{os}) e potencial de pressão (Ψ_P) das plantas de atriplex, em todas as unidades experimentais, como mostrado no quadro 3.

Contrariamente às condutâncias estomáticas (g_s) realizadas nos períodos das 6-7 h, 12-13 h e 17-18 h, das 21-22 h a g_s foi estatisticamente maior ($P \leq 0,05$) quando foi aplicado P (Quadro 1) comparado a sua não aplicação.

A maior g_s no período noturno nas plantas cultivadas na presença de aplicação de P tem relação intrínseca com seu maior potencial de pressão de turgor (Quadro 3). De acordo com Franks et al. (1995; 1998), a abertura estomática é determinada pelas pressões de turgor nas células guardas e epidermais.

Buckley et al. (2003) desenvolvendo modelos matemáticos para prever respostas estomáticas a variações em taxas de transpiração, irradiâncias e CO_2 intercelular, hipoteticamente sugeriram que o gradiente osmótico através das membranas da célula guarda é proporcional à concentração de ATP, além disso, o gradiente osmótico que pode ser mantido por unidade de ATP é proporcional à pressão de turgor das células epidermais adjacentes.

Além disso, a abertura estomática é impulsionada por uma bomba de H^+ através da membrana plasmática e esse bombeamento de prótons depende dos níveis de ATP citosólicos em células guarda (Tominaga et al., 2001). Desta forma, sob possíveis condições de maiores concentrações de P nas folhas e, como sugerido no capítulo 1, excesso de ATP nas células

cloroplastídicas, a abertura dos estômatos é induzida, ocasionando maiores condutâncias estomáticas.

Quadro 1. Condutância estomática determinada em quatro períodos do dia nas plantas de atriplex, considerando as doses de P e N

P	N	Condutância Estomática			
		6-7 h	12-13 h	17-18 h	21-22 h
$\frac{\text{mg dm}^{-2}}{3}$		$\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$			
0	0	129,2	61,1	59,0	160,6
	20	118,5	63,8	73,7	164,4
	40	88,3	48,0	53,9	143,5
	60	96,4	69,6	63,8	154,8
	80	105,7	65,1	57,3	150,7
	Média ^{1/}	107,6A	61,5A	61,6A	154,8B
134	0	127,8	82,0	75,5	170,5
	20	108,4	63,0	62,3	172,5
	40	131,4	56,6	69,4	160,5
	60	94,4	40,7	63,8	148,6
	80	104,9	52,6	52,0	151,3
	Média ^{1/}	113,4A	59,0A	64,6A	160,7A

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste F com $P \leq 0,05$.

Quadro 2. Condutância estomática determinada a cada hora nas plantas de atriplex nos tratamentos P0N0 e P0N80

Hora	P0N0	P0N80	Hora	P0N0	P0N80
h	$\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$		h	$\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	
6	163,93	157,18	15	44,58	30,53
7	111,90	108,68	16	33,40	24,50
8	65,43	84,85	17	37,15	32,03
9	58,58	62,90	18	50,70	53,30
10	49,70	49,20	19	59,38	64,33
11	62,60	41,55	20	97,68	90,65
12	45,13	37,20	21	114,98	104,65
13	50,00	31,43	22	135,93	118,18
14	48,08	31,73	Média ^{1/}	72,30A	66,05B

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra, não diferem estatisticamente pelo teste F com $P \leq 0,05$.

Quadro 3. Potencial hídrico total, potencial osmótico e potencial de pressão determinados nas plantas de atriplex, considerando as doses de P e N

P	N	Potencial Hídrico	Potencial Osmótico	Potencial de Pressão
—mg dm ⁻³ —		—MPa—		
0	0	-4,79	-5,37	0,58
	20	-3,93	-4,52	0,59
	40	-4,05	-4,94	0,90
	60	-4,33	-5,09	0,76
	80	-3,46	-4,36	0,91
	Média ^{1/}		-4,11B	-4,86A
134	0	-3,13	-4,22	1,09
	20	-3,19	-4,32	1,12
	40	-3,21	-4,21	0,99
	60	-3,94	-4,94	1,00
	80	-4,48	-5,64	1,16
	Média ^{1/}		-3,59A	-4,66A

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste F com $P \leq 0,05$.

A adubação nitrogenada interferiu na g_s medida a cada hora do dia das 6 às 22 h (Quadro 2), diminuindo as trocas gasosas quando aplicado 80 mg dm⁻³. Esse comportamento é indicativo de que maior disponibilidade de N para as plantas evita maiores perdas de água, contribuindo para eficiência do uso da água sob baixa disponibilidade no solo.

Medici et al. (2007) observaram alterações em g_s em cultivares de milho com baixo e alto fornecimento de N sob condições de seca e irrigação. Os autores relataram que o suprimento de N reduziu o efeito da seca, sendo constatado também por Liu et al. (2004) em milho e em arroz por Guo et al. (2007) e Gao et al. (2010).

A possível economia de água consequente da adubação nitrogenada é de fundamental importância sob o ponto de vista de utilização da atriplex na recuperação de solos afetados por sais, já que a oferta de água nas áreas associadas a estes problemas é restrita, o que torna ainda mais vantajosa a fertilização com N.

Por outro lado, redução na taxa fotossintética pode ocorrer em condições de menores condutâncias estomáticas. (Hussin et al., 2013)

observaram redução na taxa de transpiração em folhas de *Atriplex nummularia* induzida por concentrações crescentes de NaCl. A redução foi acompanhada por elevação da resistência estomática. Além disso, as reduções em transpiração coincidiram com diminuições progressivas na taxa fotossintética líquida, mostrando um comportamento similar à correlação positiva entre taxa fotossintética e condutância estomática encontrada em *Atriplex nummularia* por Dunn & Neales (1994).

Representando graficamente as condutâncias estomáticas e as temperaturas foliares nas plantas cultivadas nas doses P0N0 e P0N80 determinadas entre as 6 e 22 h (Figura 1), observa-se comportamento indicativo de ajustamento da planta para evitar perdas de água.

No início da manhã, sob baixas temperaturas foliares, maiores são as g_s . A g_s diminuiu ao longo da manhã, permanecendo, durante o dia, a partir das 10 h, em valores da ordem de $40 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e $30 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, nas doses P0N0 e P0N80, respectivamente. A g_s voltou a subir no início da noite, reestabelecendo as maiores trocas gasosas.

A redução da g_s durante o dia permite afirmar que esse comportamento é utilizado como forma de diminuir as perdas de água pela planta em resposta às condições as quais ela está submetida: elevadas irradiâncias, alta temperatura e baixa disponibilidade hídrica.

Como citado anteriormente, menor é o influxo de CO_2 atmosférico em baixas g_s , reduzindo a principal matéria-prima para a síntese de produtos, muito embora, o metabolismo fotossintético registrado na literatura para a espécie *Atriplex nummularia* é tipicamente C_4 , onde, dentre outras características, apresenta o mecanismo concentrador de CO_2 , que possibilita que a fotossíntese líquida ocorra em baixas concentrações do gás. Isto permite que as plantas mantenham altas taxas fotossintéticas sob menores condutâncias estomáticas.

No entanto, sugere-se que esse comportamento de redução da g_s possa ter sido induzido por uma mudança no metabolismo do carbono. O metabolismo ácido das crassuláceas (CAM), por exemplo, prevalece em plantas suculentas. Estas plantas apresentam melhor eficiência no uso da água, perdendo de 50 a 100 g de água para cada grama de CO_2 obtido,

contra 250 a 300 g e 400 a 500 g para plantas C₄ e C₃, respectivamente (Taiz & Zeiger, 2010). É um mecanismo adaptado pelas plantas, no qual os estômatos abrem à noite e fecham durante o dia.

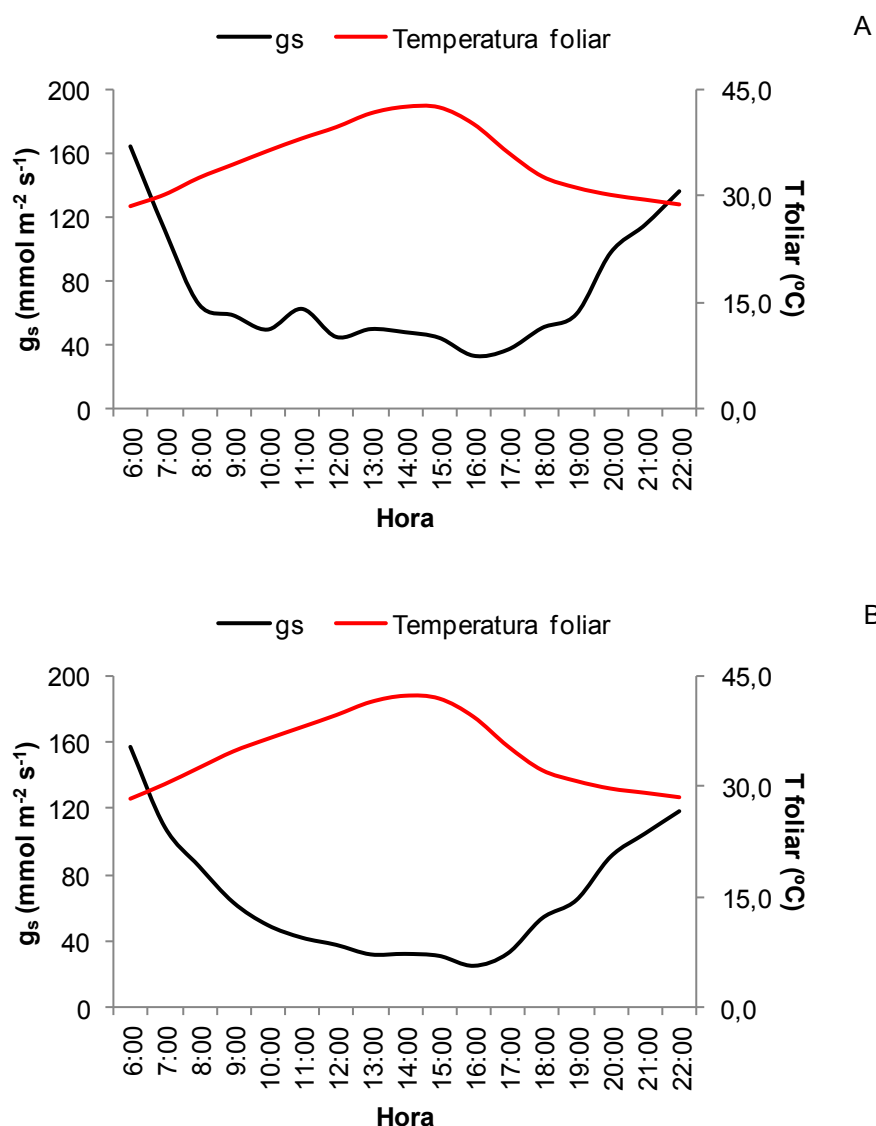


Figura 1. Condutância estomática (g_s) e temperatura foliar (T_{foliar}) ao longo do dia em atriplex cultivada em solo sob as doses P0N0 (A) e P0N80 (B).

Como relatado por Taiz & Zeiger (2010), o estresse osmótico induz o metabolismo CAM em algumas plantas, como forma de adaptar-se facultativamente quando submetidas a déficits hídricos ou condições salinas.

García-Mauriño et al. (2003) observaram que a atividade da enzima PEP-carboxilase e seu estado de fosforilação no escuro, em folhas de *Sorghum vulgare*, espécie C₄ relativamente tolerante a salinidade,

aumentaram com a salinização da solução nutritiva, sugerindo uma mistura de metabolismo fotossintético (C₄ e CAM) em resposta ao estresse salino.

A capacidade da planta para manter a assimilação de carbono e nitrogênio em equilíbrio através de mecanismos regulatórios bem coordenados pode ser considerado como um fator determinante para a tolerância ao sal em *Atriplex nummularia* (Hussin et al., 2013). Sendo assim, pela sua rusticidade e capacidade de adaptação a alterações ambientais, a atriplex é passível de mudar seu metabolismo fotossintético para melhor suprir suas necessidades metabólicas.

Entre as doses 0 e 134 mg dm⁻³ de P (Quadro 3) o potencial de pressão foi significativamente maior quando aplicado P, influenciando no aumento do potencial hídrico total da planta ($P \leq 0,05$).

Maiores Ψ_P nas células fornecem as forças expansivas necessárias para a extensão da parede celular (Koyro et al., 2013). No entanto, o maior Ψ_T na planta sob condições de maior disponibilidade de P no solo é uma desvantagem considerável tendo em vista os baixos potenciais hídricos nos quais os solos salinos estão submetidos.

O Ψ_{OS} não foi influenciado pela adubação fosfatada ($P > 0,05$). Os valores absolutos encontrados para o Ψ_{OS} nas folhas de atriplex sob quaisquer das condições de cultivo, corresponderam aos encontrados por Souza et al. (2012) (-4,93 MPa, em média) em folhas de atriplex cultivada sob diferentes níveis de umidade. Os autores enfatizaram, ainda, esta ser a explicação para a capacidade da halófito absorver água em situações às quais outras culturas são restritas.

3.2. Enzimas do estresse oxidativo e proteína solúvel

Entre as duas enzimas do estresse oxidativo analisadas, apenas a CAT diferiu estatisticamente, considerando a ausência e presença de adubação fosfatada (Quadro 4). A adubação de P possivelmente induziu à produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) pelas plantas.

As ERO são subprodutos do metabolismo celular regular, no entanto, podem ser geradas com a destruição do sistema de transporte de elétrons durante condições de estresse, sendo formadas principalmente em cloroplastos e mitocôndrias (Soares & Machado, 2007).

Quadro 4. Atividade das enzimas peroxidase do ascorbato (APX) e catalase (CAT) e proteína solúvel em folhas de atriplex, considerando as doses de fósforo (P) e nitrogênio (N) aplicadas

P	N	APX ^{2/}	CAT ^{2/}	Proteína ^{2/}	Proteína
—mg dm ⁻³ —		—μmol g ⁻¹ min ⁻¹ —		mg g ⁻¹	g folha ⁻¹
0	0	7,583	0,231	236,6	0,650
	20	8,499	0,217	188,3	0,865
	40	7,430	0,206	276,7	1,867
	60	6,616	0,192	309,2	2,077
	80	8,143	0,221	238,5	2,782
	Média ^{1/}	7,654A	0,213B	249,9A	1,648A
134	0	8,041	0,265	99,4	0,270
	20	8,414	0,208	132,1	0,530
	40	7,176	0,194	118,5	0,789
	60	9,704	0,267	263,2	1,666
	80	7,634	0,263	233,8	1,945
	Média ^{1/}	8,098A	0,239A	166,3B	1,033B

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste F com $P \leq 0,05$. ^{2/} Expressas em base de matéria fresca.

A inativação do complexo de evolução do oxigênio gerada pela desconectividade do fluxo de prótons para a síntese de ATP causada pela adubação de P (Capítulo 1), possivelmente estimulou a produção de ROS através do desvio de elétrons em direção ao O₂ derivado da fotoxidação da água, produzindo desta forma, H₂O₂, em função de prótons (H⁺) e elétrons (e⁻) em excesso nos cloroplastos. Em consequência disso, as plantas sob adubação de P apresentaram maior atividade da enzima CAT (Quadro 4) na tentativa de reduzir possíveis danos celulares causados pelas ERO.

Avaliando-se os teores e conteúdos de proteína solúvel nas folhas de atriplex, proteínas metabólicas funcionais, observaram-se maiores incrementos na ausência de aplicação fosfatada (Quadro 4). Eventualmente, o efeito fisiológico prejudicial sugerido pelo excesso de fósforo nas folhas (Capítulo 1) provocou redução na absorção de N, causando interferência na síntese de aminoácidos e proteínas. Este efeito pode refletir-se, também, nos teores de proteína bruta na planta, diminuindo a tal ponto de reduzir seu potencial forrageiro, já comprovado por diversos autores (Araújo & Porto, 2000; Souto et al., 2005; Alves et al., 2007).

Em resposta às doses crescentes de N houve acréscimo no conteúdo de proteína solúvel nas folhas de atriplex (Figura 2), tanto na ausência

quanto na presença de aplicação de P. Evidentemente pelo fato deste nutriente, em sua forma amoniacal, ser um dos principais constituintes dos aminoácidos que compõem a molécula proteica.

Muitas proteínas de membrana são conhecidas por estarem envolvidas no sequestro, compartimentalização e redistribuição iônica (Hussin et al., 2013). A antiporter Na^+/H^+ é uma importante proteína responsável pela extrusão de Na^+ do plasmalema ou sequestro de Na^+ no tonoplasto (Braun et al., 1988; Hanana et al., 2008). O baixo incremento desta proteína pode diminuir a compartimentalização e remobilização de íons Na^+ na planta, reduzindo o potencial da halófita na extração de sais.

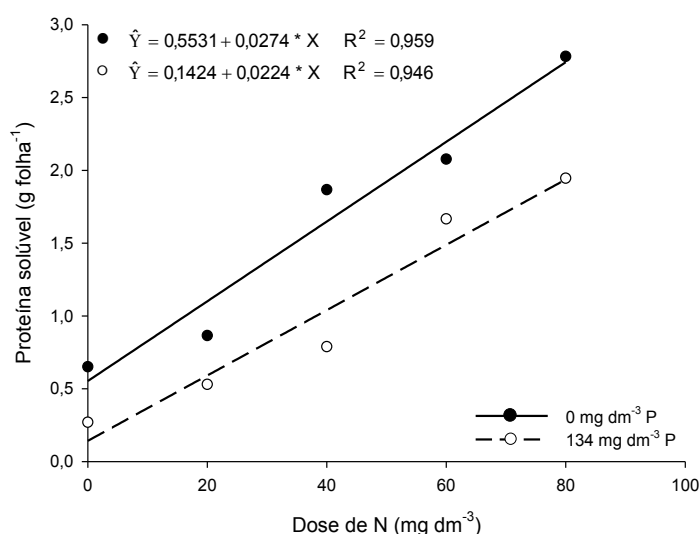


Figura 2. Conteúdo de proteína solúvel em folhas de *Atriplex nummularia* cultivada em Cambissolo Flúvico salino-sódico adubado com nitrogênio e fósforo. * Significativo com $P \leq 0,05$ pelo teste t.

4. CONCLUSÕES

- A redução da condutância estomática no período diurno nas plantas condicionadas a adubação nitrogenada é indicativa do ajuste da halófita em suportar os elevados níveis de sais e a baixa disponibilidade hídrica.
- A adição de N é efetiva na redução da condutância estomática, favorecendo a tolerância ao déficit hídrico.
- A alteração do metabolismo do carbono de C_4 para CAM é sugerida, porém não conclusiva. São necessários estudos que possam

identificar de forma mais precisa o real funcionamento fotossintético da halófito.

- A alta disponibilidade de P favorece o aumento de turgor da planta.
- Maior potencial hídrico total na planta condiciona-a a sofrer de forma mais intensa as condições salinas e de baixa disponibilidade de água, dificultando a absorção de água sob menores potenciais hídricos totais no solo.
- O incremento de nitrogênio não interferiu na atividade de enzimas do estresse oxidativo. A atriplex não altera seu mecanismo de ação contra espécies reativas de oxigênio em resposta à adubação nitrogenada.
- A adição de nitrogênio foi favorável ao incremento de proteína solúvel nas folhas, sendo de fundamental importância para o metabolismo funcional das plantas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, J. N.; ARAÚJO, G. G. L.; PORTO, E. R.; CASTRO, J. M. & SOUZA, L. C. Feno de erva-sal (*Atriplex nummularia* Lindl) e palma forrageira (*Opuntia ficul* Mill) em dietas para caprinos e ovinos. *Rev. Cient. Prod. Anim.*, 9:43-52, 2007.
- APEL, K. & HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant. Biol.*, 55:373-399, 2004.
- APEL, P. & PEISKER, M. Influence of water stress on photosynthetic gas exchange in the C3-C4 intermediate species *Flaveria floridana*. *Biochem. Physiol. Plant.*, 183:439-442, 1988.
- ARAÚJO, G. G. L. & PORTO, E. R. Produção e composição química da erva-sal, irrigada com rejeito da dessalinização de água salobra, In: SIMPÓSIO NORDESTINO DE ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES, *Anais: SNPA*, 2:115-117, 2000.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72:248-254, 1976.

- BRAUN, Y.; HASSIDIM M.; LERNER, H.R. & REINHOLD L. Evidence for a Na⁺/H⁺ Antiporter in Membrane Vesicles Isolated from Roots of the Halophyte *Atriplex nummularia*. *Plant Physiol*, 87:104-108, 1988.
- BUCKLEY, T.N.; MOTT, K.A. & FARQUHAR, G.D. A hydromechanical and biochemical model of stomatal conductance. *Plant Cell Environ.*, 26:1767-1785, 2003.
- CONNOR, D. J.; LEGGE, N. J. & TURNER, N. C. Water relations of mountain ash (*Eucalyptus regnans* f. muell.) forests. *Functional Plant Biol.*, 4:753-762, 1977.
- DUNN, G.M & NEALES, T.F. Are the effects of salinity on growth and leaf gas exchange related? *Photosynthetica*, 29:33-42,1994.
- FRANKS P.J., COWAN I.R. & FARQUHAR G.D. A study of stomatal mechanics using the cell pressure probe. *Plant, Cell and Environment*, 21:94-100, 1998.
- FRANKS P.J.; COWAN I.R.; TYERMAN S.D.; CLEARY A.L.; LLOYD J. & FARQUHAR G.D. Guard cell pressure/aperture characteristics measured with the pressure probe. *Plant, Cell and Environment*, 18:795-800, 1995.
- GAO, Y.; LI, Y.; YANG, X.; LI, H.; SHEN, Q. & GUO, S. Ammonium nutrition increases water absorption in rice seedlings (*Oryza sativa* L.) under water stress. *Plant Soil*, 331:193-201, 2010.
- GARCÍA-MAURIÑO, S.; MONREAL, J.; ALVAREZ, R.; VIDAL, J. & ECHEVARRÍA, C. Characterization of salt stress-enhanced phosphoenolpyruvate carboxylase kinase activity in leaves of *Sorghum vulgare*: independence from osmotic stress, involvement of ion toxicity and significance of dark phosphorylation. *Planta*, 216:648-655, 2003.
- GONDIM, T.M.D.S.; CAVALCANTE, L.F. & BELTRÃO, N.E.D.M. Aquecimento global: salinidade e consequências no comportamento vegetal. *Rev. Bras. Ol. Fibrós.*, 14:37-54, 2010.
- GUO, S.; CHEN, G.; ZHOU, Y. & SHEN, Q. Ammonium nutrition increases photosynthesis rate under water stress at early development stage of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Soil*, 296:115-124, 2007.

- HANANA, M.; CAGNAC, O.; YAMAGUCHI, T.; HAMDI, S.; GHORBEL, A. & BLUMWALD, E. Molecular biology and transport properties of grapevine Na⁺/H⁺ antiporter. In: ABDELLY, C.; ÖZTÜRK, M.; ASHRAF, M. & GRIGNON C., eds. Biosaline Agriculture and High Salinity Tolerance. Berlin, Birkhäuser Basel, 2008. p.305–315.
- HAVIR, E.A. & MCHALE, N.A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiol.*, 84:450-455, 1987.
- HUSSIN, S.; GEISLER, N. & KOYRO, H.-W. Effect of NaCl salinity on *Atriplex nummularia* (L.) with special emphasis on carbon and nitrogen metabolism. *Acta Physiol. Plant.*, 35:1025-1038, 2013.
- INTERGOVERNMENTAL PANEL CLIMATE CHANGE – IPCC. Working Group I Contribution to the IPCC Fifth Assessment Report (AR5), Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Disponível em: <<http://www.ipcc.ch/report/ar5/wg1/#.Uky2INJwrwM>>. Acesso em 19 set. 2013.
- KOYRO, H.-W.; DAOUD, S. & HARROUNI, M.C. Salt response of some halophytes with potential interest in reclamation of saline soils: gas exchange, water use efficiency and defence mechanism. In: SHAHID, S.A., ABDELFATTAH, M.A., TAHA, F.K., eds. *Developments in Soil Salinity Assessment and Reclamation*. Netherlands, Springer, 2013, p.523–542.
- LIU, X.; HERBERT, S.J.; JIN, J.; ZHANG, Q. & WANG, G. Responses of photosynthetic rates and yield/quality of main crops to irrigation and manure application in the black soil area of Northeast China. *Plant Soil*, 261:55-60, 2004.
- LONG, S.P.; AINSWORTH, E.A.; LEAKEY, A.D.B.; NÖSBERGER, J. & ORT, D.R. Food for thought: lower-than-expected crop yield stimulation with rising CO₂ concentrations. *Science* 312:1918-1921, 2006.
- MARTÌNEZ, J.-P.; LUTTS, S.; SCHANCK, A.; BAJJI, M. & KINET, J.-M. Is osmotic adjustment required for water stress resistance in the

- Mediterranean shrub *Atriplex halimus* L? J. Plant Physiol., 161:1041-1051, 2004.
- MEDICI, L.O.; AZEVEDO, R.A.; CANELLAS, L.P.; MACHADO, A.T. & C. PIMENTEL. Condutância estomática em milho em condições de deficiência de água e nitrogênio. Pesqui. Agropecuária Bras., 42:599-601, 2007.
- NAKANO, Y. & ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiol., 22:867-880, 1981.
- SILVEIRA, J.A.G.; ARAÚJO, S.A.M.; LIMA, J.P.M.S. & VIÉGAS, R.A. Roots and leaves display contrasting osmotic adjustment mechanisms in response to NaCl-salinity in *Atriplex nummularia*. Environ. Exp. Bot., 66:1-8, 2009.
- SOARES, A.M.S. & MACHADO, O.L.T. Defesa de plantas: sinalização química e espécies reativas de oxigênio. Rev. Trópica, 1:1-19, 2007.
- SOUTO, J. C. R.; ARAÚJO, G. G. L.; SILVA, D. S.; PORTO, E. R.; TURCO, S. H. N.; MEDEIROS, A. N. Desempenho produtivo de ovinos alimentados com dietas contendo níveis crescentes de feno de erva sal (*Atriplex nummularia* Lindl.). Rev. Ciênc. Agron., 36:376-381, 2005.
- SOUZA, E.R.; FREIRE, M.B.G.S.; CUNHA, K.P.V.; NASCIMENTO, C.W.A.; RUIZ, H.A. & LINS, C.M.T. Biomass, anatomical changes and osmotic potential in *Atriplex nummularia* Lindl. cultivated in sodic saline soil under water stress. Environ. Exp. Bot., 82:20-27, 2012.
- TAIZ, L. & ZEIGER, E. Plant physiology. 5.ed. Sunderland, Sinauer, 2010. 782p.
- TOMINAGA, M.; KINOSHITA, T. & SHIMAZAKI, K. Guard-cell chloroplasts provide ATP required for H⁺ pumping in the plasma membrane and stomatal opening. Plant Cell Physiol., 42:795-802, 2001.
- TURNER, N. C. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. Plant and Soil, 58:339-366, 1981.

- ULIARTE, E.M.; SCHULTZ, H.R.; FRINGS, C.; PFISTER, M.; PARERA, C.A. & DEL MONTE, R.F. Seasonal dynamics of CO₂ balance and water consumption of C₃ and C₄-type cover crops compared to bare soil in a suitability study for their use in vineyards in Germany and Argentina. *Agric. For. Meteorol.*, 181:1-16, 2013.
- ZISKA, L.H. & BUNCE, J.A. Influence of increasing carbon dioxide concentration on the photosynthetic and growth stimulation of selected C₄ crops and weeds. *Photosynth. Res.*, 54:199-208, 1997.

CAPÍTULO 3

EXTRAÇÃO DE SÓDIO POR *Atriplex nummularia* EM SOLO SALINO-SÓDICO SOB ADUBAÇÃO NITROGENADA E FOSFATADA

RESUMO

Estudos relacionados à resposta de plantas halófitas à fertilização, principalmente nitrogenada, podem fornecer informações relevantes quanto aos aspectos do manejo mais adequado da fitorremediação. O objetivo foi avaliar a produção de matéria seca, a capacidade de extração de sódio e a absorção de nutrientes pela atriplex, cultivada em solo salino-sódico, em resposta a doses de nitrogênio, sem e com aplicação de P. O desenho experimental constituiu-se por arranjo fatorial 2 x 5, sendo duas doses de fósforo (0 e 134 mg dm⁻³) e cinco doses de nitrogênio (0, 20, 40, 60 e 80 mg dm⁻³), dispostos em blocos casualizados com quatro repetições. Mudanças foram transplantadas com 60 dias de idade e monitoradas sob baixa disponibilidade hídrica no solo (-70 kPa) por 80 dias. Foram realizadas medidas biométricas, quantificação de produção de folhas, caules e raízes, determinação dos teores de P e N em folhas e Na, Ca, Mg e K nas frações da planta. No solo, foram quantificados os teores de Na nas fases trocáveis e solúveis e Ca e Mg solúveis. Os dados foram submetidos à análise de variância com $P \leq 0,05$. Análises de regressão foram realizadas para relacionar as doses de nitrogênio, na ausência ou presença de aplicação de fósforo, com as doses de N. Não houve diferenças significativas em resposta à aplicação de fosfato nas unidades experimentais quando analisados os dados de crescimento e produção da planta. A adição de N permitiu acréscimo na retirada de Na de 4,1, 3,6 e 1,8 vezes, para P0, e de 4,0, 8,4 e 2,1 vezes, para P134, considerando folhas, caules e raízes, respectivamente. Os valores médios de PST, máximo (para N0) e mínimo (para N80), indicaram 38, 40 e 32% para as determinações no tratamento P0 e 40, 44 e 38% para o tratamento P134, respectivamente. Houve diminuição de Na no extrato da pasta de saturação e no complexo de troca com o incremento de N no solo. O fornecimento de N potencializa a extração de Na e outros nutrientes pela *Atriplex nummularia*,

podendo ser uma técnica viável a ser adicionada no plano de manejo para recuperação de solos afetados por sais pelo processo de fitorremediação.

Palavras-chave: nitrogênio, halófitas, sodicidade, fitorremediação

ABSTRACT

Studies related to the response of halophytes plant to fertilization, especially nitrogen, can provide relevant information regarding the most appropriate management aspects of phytoremediation. The objective was to evaluate the dry matter production, the ability to extract sodium and nutrient uptake by atriplex grown in saline-sodic soil in response to nitrogen, with and without application of P. The experimental design consisted of 2 x 5 factorial arrangement, with two levels of phosphorus (0 and 134 mg dm⁻³) and five nitrogen rates (0, 20, 40, 60 and 80 mg dm⁻³), arranged in block design with four replications. Seedlings were transplanted at 60 days of age and monitored under low water availability in the soil (-70 kPa) for 80 days. Biometric measurements, quantification of production of leaves, stems and roots, determination of P and N in leaves and Na, Ca, Mg and K in the plant fractions were performed. On the ground, the Na contents were quantified in soluble and exchangeable Ca and Mg and soluble phases. The statistical significance of the variables was tested using analysis of variance (ANOVA) with F-test ($P \leq 0.05$). Regression analyzes were performed to relate the levels of nitrogen in the absence or presence of phosphorus application at doses of N. There were no significant differences in response to application of phosphate in experimental units when analyzed data growth and yield of the plant. The addition of N withdrawal allowed addition of Na in 4.1, 3.6 and 1.8 fold to P0, and 4.0, 8.4 and 2.1 fold to P134, considering leaves, stems and roots, respectively. The average values of PST maximum (to N0) and a minimum (to N80) indicated 38, 40 and 32% for the determinations in the treatment P0 and 40, 44 and 38% for the treatment P134, respectively. Decreased Na in the saturated soil paste extract and exchange complex with the increase of N in the soil. The N supply enhances the extraction of Na and other nutrients by *Atriplex nummularia*, may be a viable technique to be added to the management plan for the reclamation of salt affected soils by phytoremediation process.

Key words: nitrogen, halophyte, sodicity

1. INTRODUÇÃO

O uso de fertilizantes na agricultura moderna é difundido e objetiva a obtenção de ganhos na produtividade das culturas. Em geral, o induzido incremento no rendimento possibilita maior retorno econômico para o agricultor.

Contudo, quando se trata de recuperação de áreas degradadas, pouca atenção é dada para um plano de manejo que inclua como ferramenta, muitas vezes essencial, a adubação do solo. Nesse sentido, são exceções a recuperação de pastagens degradadas e a de áreas afetadas por mineração, onde há baixa fertilidade do solo, geralmente associada à acentuada acidez. O uso de adubação via fertilizantes minerais ou orgânicos já tem sido bastante recomendada nessas circunstâncias (Rovedder et al., 2009; Noronha et al., 2010; Campos et al., 2011).

Em solos afetados por sais é baixa a aceitação da introdução de espécies vegetais capazes de extrair íons formadores de sais no solo, entre outras a halófita atriplex (*Atriplex nummularia*), pelos produtores rurais. Em acréscimo, a baixa disponibilidade de recursos econômicos nessas propriedades reduz a utilização de meios para reposição de nutrientes diminuindo, eventualmente, a capacidade extrativa desses vegetais.

Estudos relacionados à resposta dessas plantas à fertilização, principalmente nitrogenada, podem fornecer informações relevantes quanto aos aspectos do manejo mais adequado da fitorremediação. Estudos foram publicados abordando diferentes aspectos dessa cultura (Leal et al., 2008; Souza et al., 2011, 2012, 2014; Santos et al., 2013).

Um dos entraves destacados pela não utilização da fitorremediação é o tempo necessário para recuperação. Hipoteticamente, esse período pode ser reduzido quando introduzido o uso de adubos minerais ou orgânicos no processo. De forma adicional, após minimização dos problemas consequentes da salinização ou sodificação, a inserção de culturas de maior potencial econômico nas áreas recuperadas seria favorecida pelo efeito residual dos nutrientes aplicados.

Esta pesquisa objetivou avaliar a produção de matéria seca, a capacidade de extração de sódio e a absorção de nutrientes pela halófita

atriplex, cultivada em solo salino-sódico, em resposta a doses de nitrogênio, na ausência e na presença de adubação fosfatada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo, realizado com atriplex como planta-teste, foi desenvolvido em casa de vegetação com amostra, coletada na profundidade de 0-30 cm, de um Cambissolo Flúvico salino-sódico localizado no Perímetro Irrigado Cachoeira II, Serra Talhada, Pernambuco (Quadro 1).

Os tratamentos, dispostos segundo delineamento em blocos casualizados com quatro repetições, corresponderam a um arranjo fatorial 2 x 5, sendo duas doses de fósforo (0 e 134 mg dm⁻³, respectivamente P0 e P134) e cinco doses de nitrogênio (0, 20, 40, 60 e 80 mg dm⁻³, respectivamente N0, N20, N40, N60 e N80).

Os tratamentos foram aplicados nos 30 cm superficiais do solo, utilizando-se o sulfato de amônio como fonte de N. Na adubação fosfatada, metade da dose foi aplicada na forma de fosfato monocálcico e a outra metade, na forma de fosfato de potássio. Todas as unidades experimentais receberam S, Ca, Mg e K (80, 65, 11 e 130 mg dm⁻³, respectivamente), de forma a igualar as concentrações desses nutrientes nas diferentes unidades. O S foi aplicado na forma elementar e os cátions, na forma de cloreto.

O experimento foi instalado e conduzido conforme metodologia descrita no capítulo 1. A umidade do solo foi monitorada com tensiômetros de punção por 80 dias, no potencial de trabalho de -70 kPa. Aos 80 dias, foram determinados o diâmetro do caule e a altura das plantas.

A parte aérea foi cortada a 1 cm da superfície do solo e imediatamente pesada, para obtenção da produção de matéria fresca. Posteriormente, foram separadas folhas e caules, levando-se os materiais à estufa de ventilação forçada, a 65°C, até estabilização do peso para a obtenção da produção de matéria seca.

Um dia após a retirada da parte aérea, as raízes foram coletadas. Para isso, os tubos de PVC foram serrados e as colunas de solo de cada unidade experimental divididas em três seções de 30 cm cada uma. A seção superior (0-30 cm) foi destorroada manualmente e as raízes separadas,

sendo logo lavadas com água corrente e secadas em estufa de ventilação forçada, a 65°C.

Quadro 1. Caracterização do Cambissolo Flúvico salino-sódico utilizado no ensaio

Caracterização do Extrato da Pasta de Saturação ^{1/}						
pH _{ES}	CE _{ES}	Ca _{ES}	Mg _{ES}	K _{ES}	Na _{ES}	RAS
	dS m ⁻¹	cmol _c L ⁻¹				(mmol _c /L) ^{0,5}
8,49	51,88	0,666	0,077	0,062	137,195	711,51
Caracterização Química do Solo						
Ca ^{1/}	Mg ^{1/}	K ^{1/}	Na ^{1/}	PST ^{1/}	P ^{2/}	
cmol _c kg ⁻¹				%	mg dm ⁻³	
7,253	0,702	0,190	13,261	61,95	33,23	
Caracterização Física do Solo						
Areia Grossa ^{3/}	Areia Fina ^{3/}	Silte ^{3/}	Argila ^{3/}	D _P ^{4/}	D _S ^{4/}	
kg kg ⁻¹				kg dm ⁻³		
0,134	0,327	0,424	0,115	2,68	1,24	

^{1/} USSLS (1954). ^{2/} Olsen (1954). ^{3/} Ruiz (2005). ^{4/} D_P e D_S: densidade de partículas e do solo, respectivamente (EMBRAPA, 1997).

O solo foi reservado para posterior caracterização conforme métodos previamente descritos (Capítulo 1). Da mesma maneira, foi coletado o solo do segundo setor, de 30 a 60 cm de profundidade na unidade experimental. A ausência de raízes levou a descartar o terceiro setor de 30 cm de espessura.

Os tecidos vegetais secos foram passados em moinho tipo Wiley e analisados. Amostras foram utilizadas para determinar os teores de sódio, fósforo (somente em folhas), potássio, cálcio e magnésio, após digestão nitroperclórica, na relação 3:1. Nos extratos determinaram-se o sódio e o potássio, por fotometria de emissão de chama, o cálcio e o magnésio, por espectrofotometria de absorção atômica, e o fósforo, por colorimetria após obtenção do complexo fosfomolibdico reduzido. O nitrogênio foi determinado em amostras de folhas, utilizando o método de Kjeldahl por digestão com ácido sulfúrico. Com os dados de produção de matéria seca e dos teores

dos elementos nas folhas, caules e raízes foram calculados os conteúdos extraídos pela planta.

Com os dados de produção de matéria seca foi calculado o índice de colheita, pela relação entre a produção de matéria seca de parte aérea e a produção de matéria seca total da planta.

Para avaliar o acúmulo de sódio em relação ao sódio presente no solo foi calculado o fator de bioconcentração (FBC), pela relação entre a concentração de sódio nas folhas e o sódio trocável no solo, expresso em g kg^{-1} . Também foi calculado o fator de translocação (FT) do sódio, pelo quociente entre o conteúdo de sódio nas folhas dividido pelo conteúdo de sódio nas raízes (Ghosh & Singh, 2005; Tapia et al., 2013).

Foi realizada análise de variância (ANOVA) para teste de significância a partir do teste F com $P \leq 0,05$ de todas as variáveis estudadas. As variáveis dependentes foram relacionadas com as doses de nitrogênio, na ausência ou presença de aplicação de fósforo, por meio de análise de regressão. Os coeficientes das equações foram testados a partir da correção do valor t obtido na ANOVA da regressão, utilizando o quadrado médio do resíduo da análise de variância geral. Para os coeficientes não significativos, optou-se por adicionar os níveis de significâncias encontrados nas análises de regressão com o objetivo de indicar uma tendência de comportamento dos dados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No quadro 2 são apresentados os resultados das variáveis biométricas e de produção, incluindo matéria fresca de parte aérea e matéria seca de folhas (MSF), caules (MSC), raízes (MSR) e total (MST = MSF + MSC + MSR).

Pelos dados, observa-se que, independentemente da variável analisada, não houve diferenças estatisticamente significativas em resposta à aplicação de fosfato nas unidades experimentais (Quadro 2). Pode, eventualmente, ser questionada a aplicação de P em solo com a elevada disponibilidade registrada (Quadro 1). A determinação da aplicação foi motivada pela baixa disponibilidade de água nas unidades experimentais,

restrita a -70 kPa. Esse potencial, em ensaios em casa de vegetação e dependendo da espécie vegetal, pode reduzir severamente o crescimento das plantas aproximando-as do ponto de murcha permanente. O incremento da disponibilidade de P favoreceria, em teoria, o transporte até a superfície das raízes suprimindo eventual deficiência. Pode-se concluir que não é conveniente a adubação fosfatada, nessas condições, do atriplex.

A resposta dessas variáveis às doses de N aplicadas é apresentada nas figuras 1 e 2. Em geral, tanto na ausência quanto na presença de adubação fosfatada, a incorporação de N favoreceu o crescimento da atriplex. Porém, verifica-se que esse incremento de produção foi mais acentuado quando não houve aplicação de P nas unidades experimentais.

Essa discrepância não pode ser atribuída às diferenças na pressão osmótica da solução do solo nos dois tratamentos com P, pois, em P0 foram incorporados sais de Ca e K, de forma a igualar as concentrações desses nutrientes no solo em estudo.

Quadro 2. Diâmetro do caule (d), altura da planta (h), produção de matéria fresca da parte aérea (MFPA) e produção de matéria seca de folhas (MSF), caules (MSC), raízes (MSR) e total (MST) de plantas de atriplex, considerando as doses de fósforo e de nitrogênio aplicadas

P	N	d	h	MFPA	MSF	MSC	MSR	MST
mg dm ⁻³		mm	cm	g planta ⁻¹				
0	0	4,13	52,88	22,74	2,75	3,95	1,56	8,25
	20	4,43	57,58	35,64	4,64	5,16	1,98	11,78
	40	5,65	63,43	54,24	7,14	8,69	2,92	18,74
	60	4,60	65,13	48,91	6,80	6,53	2,42	15,74
	80	6,98	71,95	85,11	11,59	12,24	4,36	28,20
	Média ^{1/}	5,16A	62,19A	49,33A	6,58A	7,31A	2,65A	16,54A
134	0	4,10	49,58	23,28	2,62	3,77	1,72	8,11
	20	4,53	56,48	33,59	4,16	5,42	2,50	12,09
	40	5,68	65,15	54,80	6,87	9,33	3,52	19,72
	60	4,08	69,63	50,47	6,66	5,96	2,97	15,59
	80	4,75	60,58	59,29	7,97	7,23	3,08	18,28
	Média ^{1/}	4,63A	60,28A	44,29A	5,66A	6,34A	2,76A	14,76A

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste F com $P \leq 0,05$.

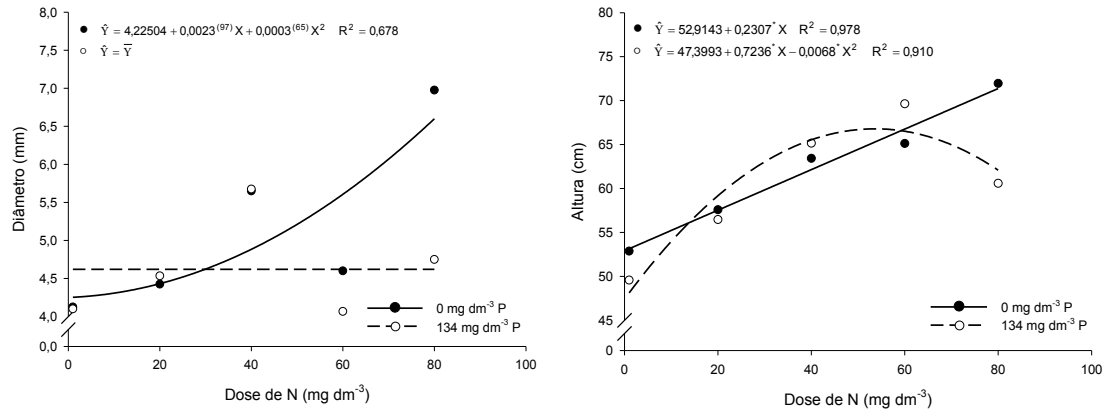


Figura 1. Diâmetro do caule e altura de plantas de atriplex, considerando as doses de nitrogênio aplicadas na ausência ou presença de adubação fosfatada. * Significativo com $P \leq 0,05$ pelo teste t. Sobrescrito dos coeficientes indica a significância com $P > 0,05$.

Essa constatação sugere algum efeito negativo do excesso de P sobre o crescimento do atriplex. Uma hipótese indicaria que, eventualmente, isso favoreceu a síntese excessiva de ATP através da fotofosforilação provocando, dessa forma, o acúmulo de prótons e elétrons no lume do tilacóide e interrompendo o fluxo de elétrons no fotossistema II durante a fase de captação de energia luminosa no processo fotossintético (Capítulo 1). Assim, foi prejudicada a formação de poder redutor (NADPH) a ser utilizado nos diferentes metabolismos da planta, principalmente no metabolismo do carbono, com reflexo na diminuição da síntese de compostos orgânicos.

Na figura 2 também é representada a resposta a N do índice de colheita (IC), calculado pela relação entre a produção de matéria seca da parte aérea e matéria seca total, nos tratamento P0 e P134. Observa-se nessa figura que, no tratamento P0, os resultados experimentais de MSF, MSC e MST permitiram ajuste a equações de regressão exponenciais que refletiram o crescimento continuado das duas variáveis, porém maior da MSF nas doses iniciais. Nas doses mais elevadas, o crescimento foi equilibrado levando ao ajuste da equação quadrática (Figura 2).

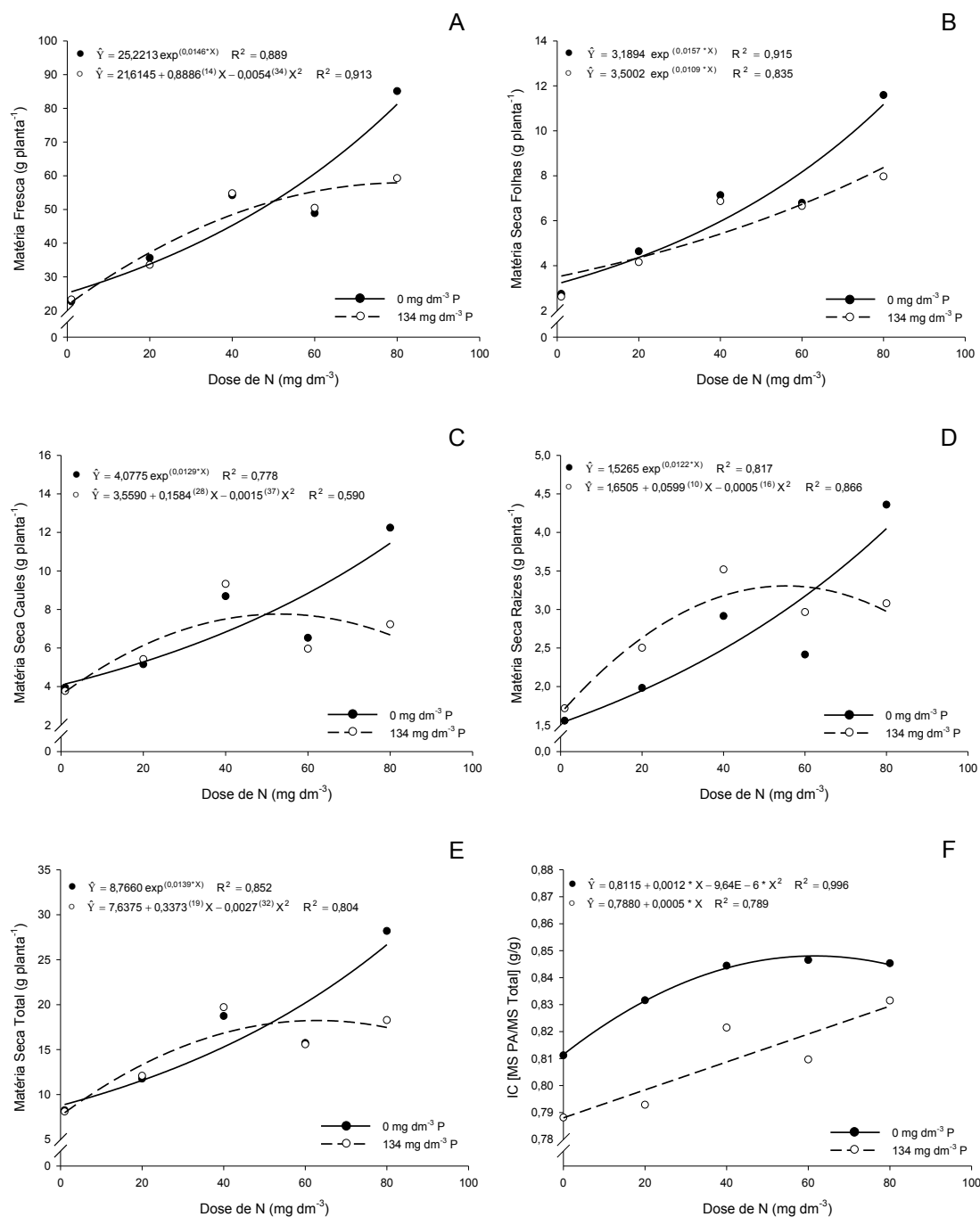


Figura 2. Produção de matéria fresca de parte aérea (A), produção de matéria seca de folhas (B), caules (C), raízes (D), total (E) e índice de colheita (IC) (F) em plantas de atriplex, considerando as doses de nitrogênio aplicadas na presença e na ausência de adubação fosfatada. * Significativo com $P \leq 0,05$ pelo teste t. Sobrescrito dos coeficientes indica a significância com $P > 0,05$.

No tratamento P134, o crescimento de folhas foi ajustado a uma equação exponencial, mas a MST apresentou ajuste quadrático, reflexo da contribuição da MSC e MSR (Quadro 2). Assim, o quociente resultante permitiu o ajuste de uma equação linear. Isso, erroneamente poderia levar à conclusão que o tratamento P134 seria mais efetivo e indica a necessidade do estudo criterioso das variáveis que deram origem à relação apresentada.

Do ponto de vista da extração de sais e da utilização da planta na alimentação de ruminantes, quanto maiores os IC, melhor será o retorno agrônômico gerado pelo cultivo da atriplex, pois é em folhas e caules, principalmente em folhas, que ocorre acúmulo de sais e proteínas.

O Na absorvido pelas plantas de atriplex foi distribuído em folhas, caules e raízes, como mostrado no quadro 3. Reiterando os resultados obtidos para produção de matéria seca (Quadro 2), não foram evidenciadas diferenças estatisticamente significativas para o acúmulo médio, quando comparados os tratamentos sem e com aplicação de fosfato (Quadro 3). Obviamente, as respostas semelhantes mostradas para parte aérea e acúmulo de Na em toda a planta de atriplex foram resultado dos valores evidenciados para os constituintes previamente indicados.

Quadro 3. Conteúdo de Na em folhas (NaF), caules (NaC), raízes (NaR), parte aérea (NaPA) e plantas de atriplex (NaT = NaR + NaPA), considerando as doses de fósforo e nitrogênio aplicadas

P	N	NaF	NaC	NaR	NaPA	NaT
mg dm ⁻³		mg planta ⁻¹				
0	0	241,66	27,07	25,06	268,73	293,80
	20	418,43	38,42	39,39	456,86	496,25
	40	635,45	68,07	37,00	703,52	740,51
	60	636,28	53,46	42,92	689,74	732,65
	80	991,52	98,38	44,92	1089,90	1134,82
	Média ^{1/}	584,67A	57,08A	37,86A	641,75A	679,61A
134	0	205,63	13,81	27,27	219,44	246,70
	20	354,10	27,33	29,84	381,43	411,27
	40	585,98	54,07	41,03	640,05	681,08
	60	684,02	106,80	40,77	790,82	831,58
	80	820,42	116,76	57,36	937,19	994,55
	Média ^{1/}	531,25A	63,39A	39,69A	594,64A	634,33A

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste F com $P \leq 0,05$.

A aplicação de N contribuiu para a retirada de Na do solo, em concordância com as curvas apresentadas na figura 3. Essa representação confirma a não significância em resposta à incorporação de P (Quadro 3), mostrando traçados muito próximos, mesmo quando o ajuste das equações levou a diferentes modelos de regressão.

Tomando como base as médias apresentadas no quadro 3 para folhas, caules e raízes, verifica-se que esses três constituintes, na ausência de N, retiraram aproximadamente 242, 27 e 25 mg planta⁻¹ de Na. Nos tratamentos P134 os valores foram de 206, 14 e 27 mg planta⁻¹, respectivamente. Considerando o valor máximo de N aplicado (N80), os resultados foram, respectivamente, 992, 98 e 45 mg planta⁻¹, para P0, e 820, 117 e 57 mg planta⁻¹, para P134. Assim, sempre considerando sequencialmente folhas, caules e raízes, a adição de N permitiu acréscimo na retirada de Na de 4,1, 3,6 e 1,8 vezes, para P0, e de 4,0, 8,4 e 2,1 vezes, para P134.

Evidencia-se, assim, o potencial aumento de extração de Na pela halófita quando cultivada sob maiores disponibilidades de nitrogênio no solo, podendo favorecer o processo de fitorremediação em consequência da possível redução do tempo de recuperação dos solos afetados por sais.

Estes resultados indicam que mesmo sendo uma espécie altamente tolerante a ambientes considerados restritos para a maioria das plantas superiores utilizadas economicamente, a atriplex é estimulada a extrair íons Na em maiores quantidades quando adubada com N, tornando-se mais eficiente na extração de sais do solo, como também mostrado pelo fator de translocação, principalmente na ausência de aplicação de P (Figura 3).

Como previamente informado, houve crescimento de raízes até 30 cm de profundidade na coluna de solo, de 90 cm. Para análise, foram retiradas amostras representativas dos setores de 0-30 e 30-60 cm, descartando-se o setor inferior de 30 cm de espessura. Os resultados das análises do extrato da pasta de saturação e do Na trocável, nas duas profundidades, são apresentados no quadro 4.

Tomando como base a concentração de Na no extrato de saturação e o Na trocável no solo observam-se, na camada 30-60 cm, valores semelhantes àqueles da caracterização do solo (Quadros 1 e 4). No potencial de trabalho de -70 kPa o movimento de água é muito lento e, assim, pode ser considerado

que, praticamente não houve transporte de solutos a posições inferiores daquelas em que foi constatado crescimento de raízes.

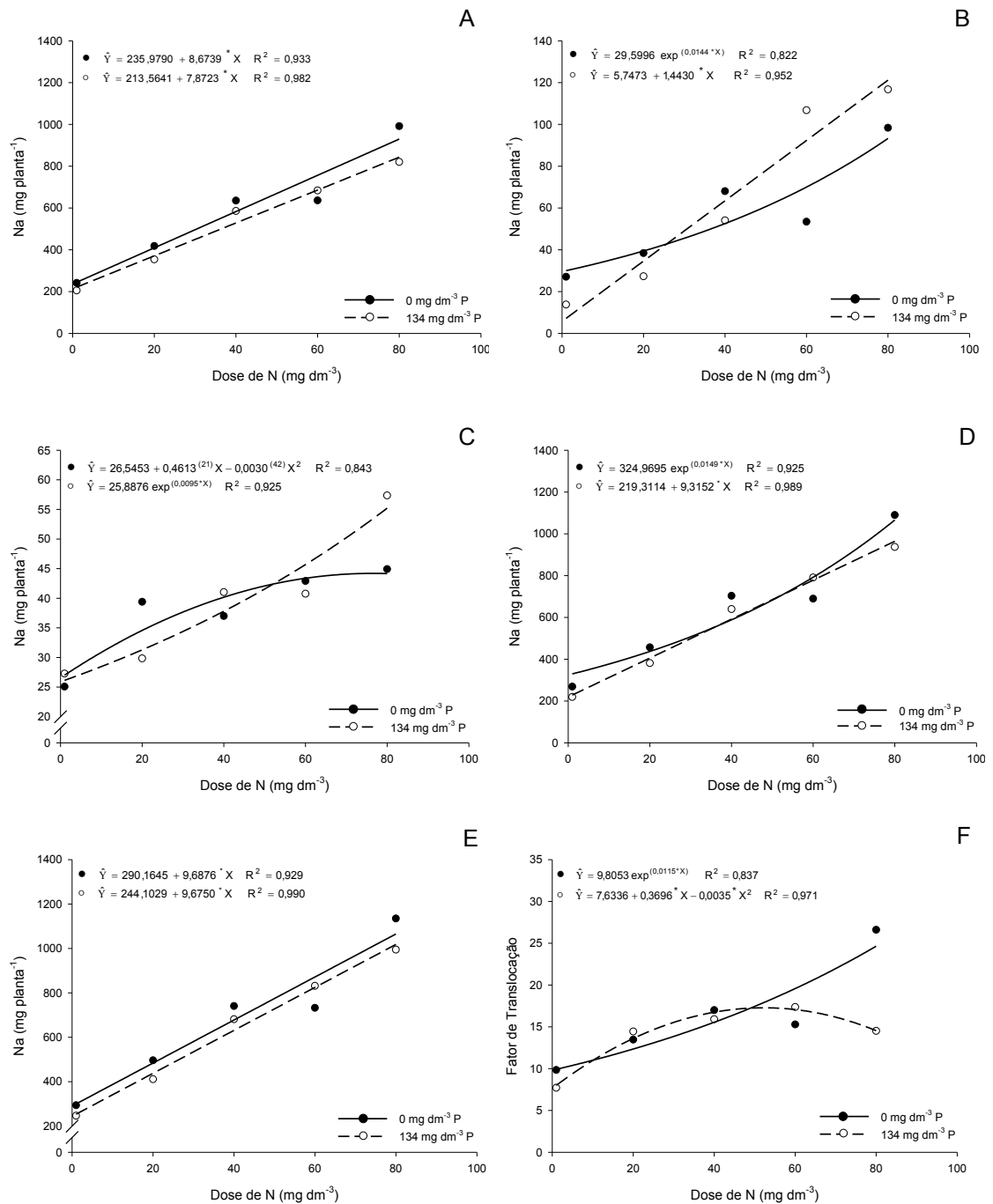


Figura 3. Conteúdo de sódio em folhas (A), caules (B), raízes (C), parte aérea (D) e total (E) e fator de translocação (F) em plantas de atriplex, considerando as doses de nitrogênio aplicadas na ausência ou presença de adubação fosfatada. * Significativo com $P \leq 0,05$ pelo teste t. Sobrescrito dos coeficientes indica a significância com $P > 0,05$.

Quadro 4. Características do extrato da pasta de saturação e valores do sódio trocável (Na_T) após a finalização do ensaio, considerando as doses de fósforo e nitrogênio aplicadas e a profundidade de amostragem na coluna de solo

P	N	pH_{ES}	CE_{ES}	Ca_{ES}	Mg_{ES}	Na_{ES}	RAS	Na_T
—mg dm ⁻³ —			dS m ⁻¹	———cmol _c L ⁻¹ ———			(mmol _c L ⁻¹) ^{1/2}	cmol _c kg ⁻¹
Profundidade 0-30 cm								
0	0	7,06	30,10	3,13	1,11	42,91	94,62	10,15
	20	7,09	27,06	2,55	1,38	40,79	91,90	9,98
	40	7,32	27,32	3,01	1,44	35,64	73,21	8,24
	60	7,33	29,74	3,44	1,24	32,41	69,78	8,66
	80	7,13	22,58	4,53	1,46	27,46	49,36	7,37
	Média ^{1/}	7,19A	27,36A	3,33A	1,33A	37,76A	78,86B	8,88B
134	0	7,14	27,67	1,41	1,36	38,97	104,09	10,56
	20	7,46	23,96	1,25	1,09	38,67	114,75	10,48
	40	7,23	22,52	1,65	1,12	36,55	98,38	10,03
	60	7,15	25,25	2,28	1,12	38,97	92,85	9,16
	80	7,03	28,73	2,65	1,75	38,97	82,36	8,70
	Média ^{1/}	7,20A	25,62A	1,85B	1,29A	38,42A	98,49A	9,78A
Profundidade 30-60 cm								
0	0	8,00	55,11	0,55	0,12	142,72	791,25	13,84
	20	8,38	59,33	0,50	0,10	153,60	962,30	13,05
	40	8,69	57,75	0,39	0,06	154,64	1028,04	13,96
	60	8,27	58,22	0,57	0,12	154,12	859,10	14,08
	80	8,50	56,20	0,43	0,07	148,42	972,92	13,26
	Média ^{1/}	8,37A	57,32A	0,49A	0,09A	150,70A	922,72A	13,64A
134	0	8,70	56,36	0,39	0,07	152,05	1001,48	13,92
	20	8,83	59,74	0,35	0,04	158,79	1147,86	13,46
	40	8,67	57,46	0,34	0,05	151,01	1085,84	13,51
	60	8,32	53,02	0,44	0,09	121,47	772,75	13,22
	80	8,50	57,41	0,42	0,05	134,42	905,40	13,88
	Média ^{1/}	8,60A	56,80A	0,39B	0,06A	143,55B	982,67A	13,60A

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, para cada profundidade, não diferem estatisticamente pelo teste F com $P \leq 0,05$.

Como praticamente não aconteceu lixiviação, os valores determinados na camada 0-30 (Quadro 4), quando comparados com aqueles da caracterização (Quadro 1), podem ser atribuídos à resposta ao cultivo da atriplex nas unidades experimentais ou à aplicação de nutrientes realizada nesse setor da coluna de solo. Na comparação com a camada de 30-60 cm,

observa-se diminuição generalizada de pH, condutividade elétrica (CE), relação de adsorção de sódio (RAS) e Na solúvel e trocável, respostas todas favoráveis à recuperação de solos afetados por sais. Contribui também, nesse sentido, o incremento de Ca e Mg originados da aplicação de adubos no tratamento P134 e da incorporação de quantidades equivalentes desses nutrientes no tratamento P0.

A diminuição do pH pode ser atribuída à retirada de sódio do meio, por parte das plantas de atriplex (Quadro 4). Porém, para essa característica específica, não deve descartar-se a incorporação de sulfato de amônio como fonte de N. Considerando as condições experimentais, em que o S foi equilibrado utilizando S elementar, sua oxidação leva à redução do pH. Também, o processo de nitrificação do amônio tende a reduzir o pH do solo. O papel preponderante da ação da atriplex na retirada de Na do meio é destacado pela redução acentuada da CE, em todos os tratamentos (Quadro 4).

A discrepância nos valores de Ca no extrato de saturação, próximo do dobro no tratamento P0 quando comparado ao P134 (Quadro 4), pode ser atribuído à dose de 134 mg dm^{-3} de P aplicada. Sugere-se ter havido precipitação de fosfato tricálcico, com retirada do cátion na forma solúvel, aquela determinada no extrato da pasta de saturação (Novais et al., 2007).

A resposta de características do extrato da pasta de saturação e da determinação do Na trocável, na camada de 0-30 cm, à aplicação de doses de N é mostrada nas curvas da figura 4. Em concordância com os dados previamente informados, referentes ao crescimento e a locação de Na nas plantas de atriplex (Quadros 2 e 3), houve, em geral, diminuição de Na no extrato da pasta de saturação e, também, nos valores no complexo de troca. A ausência de resposta do Na no extrato da pasta de saturação à adição de N em P134 pode, eventualmente, ser atribuída à maior velocidade de reposição do Na trocável para a solução do solo, sob influência do P presente.

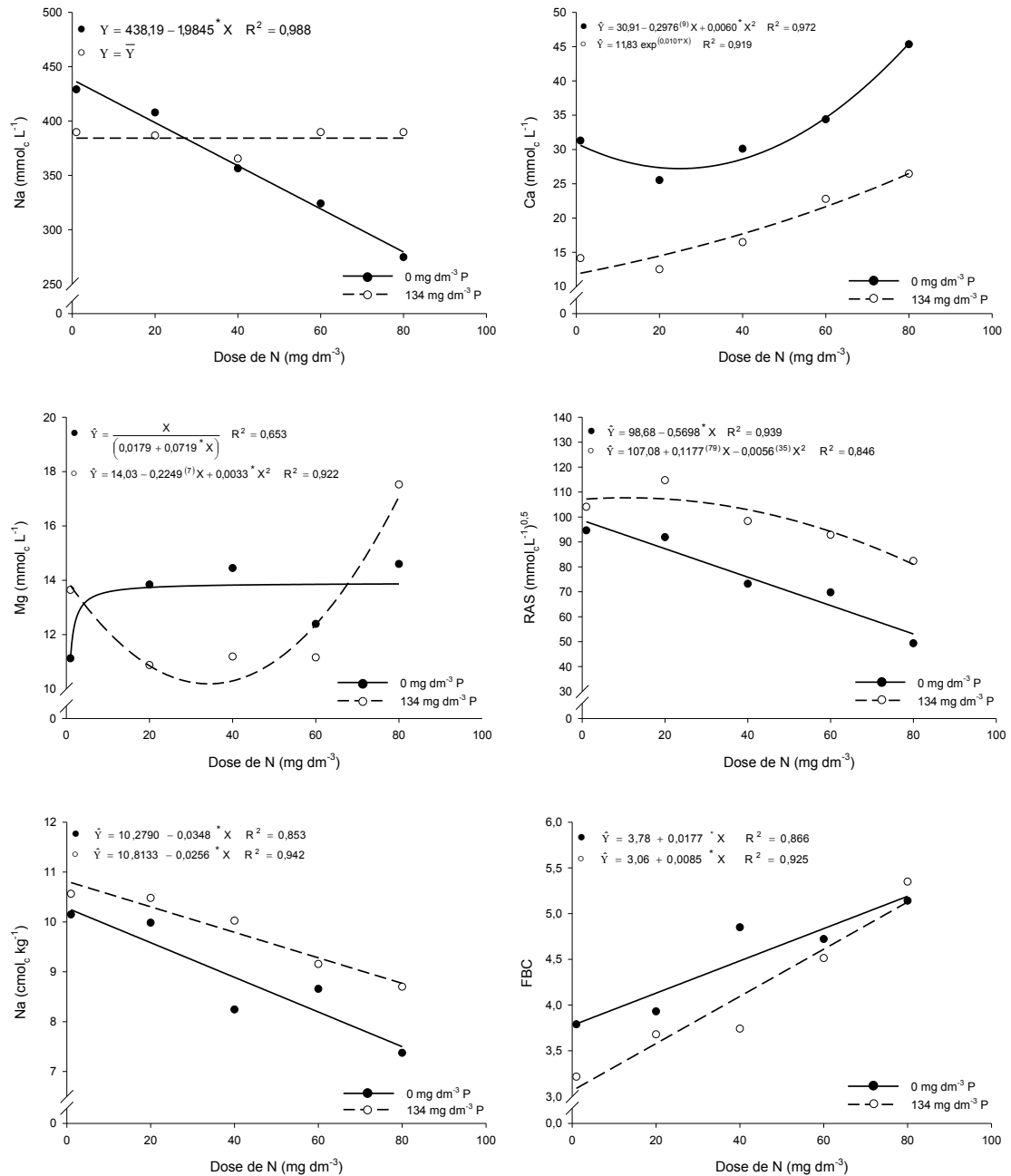


Figura 4. Concentração de sódio, cálcio e magnésio no extrato da pasta de saturação, relação de adsorção de sódio (RAS) e sódio trocável em Cambissolo Flúvico, na profundidade de 0 a 30 cm, e fator de bioconcentração (FBC), considerando as doses de nitrogênio aplicadas na ausência ou presença de adubação fosfatada. *Significativo com $P \leq 0,05$ pelo teste t. Sobrescrito dos coeficientes indica a significância com $P > 0,05$.

Na caracterização do solo estudado foi observada PST de 62% (Quadro 1). Valores de Ca²⁺, Mg²⁺ e K⁺ trocáveis, determinados, mas não incluídos neste

trabalho, permitiram calcular a PST após a finalização do ensaio com os dados de Na trocável apresentados no quadro 4, para a camada 0-30 cm. Considerando os valores médios, máximo (para N0) e mínimo (para N80), os resultados indicaram 38, 40 e 32% para as determinações no tratamento P0 e 40, 44 e 38% para o tratamento P134, respectivamente. Reafirma-se, assim, a conveniência do uso da atriplex na recuperação de solos afetados por sais e sem aplicação de P.

O FBC no tratamento N0, associado à capacidade da atriplex extrair Na do solo, e o incremento no intervalo N0 até N80, associado com a resposta à adubação nitrogenada, consolidam a indicação da atriplex para retirada de sódio de solos afetados por sais e a importância do suprimento do solo com N para acelerar esse processo (Figura 4).

Os teores médios dos nutrientes em folhas caules e raízes podem ser observados no quadro 5.

Com teor médio de $30,33 \text{ g kg}^{-1}$ de N na folha, o tratamento sem aplicação de P foi estatisticamente superior ao solo adubado com P. Os nutrientes Mg e K também foram estatisticamente diferentes e superiores para a dose 0 mg dm^{-3} , com teores na folha de $7,67$ e $27,13 \text{ g kg}^{-1}$, respectivamente.

Nas raízes, o teor de potássio foi significativamente superior quando o solo não foi adubado com fósforo, $18,24 \text{ g kg}^{-1}$, contra $15,08 \text{ g kg}^{-1}$ no tratamento com adubação de fósforo. Os menores teores de Mg e K nas plantas com maior disponibilidade de P pode ter relação direta com o menor teor de N encontrado nestas plantas, já que o transporte nutricional é facilitado por proteínas denominadas proteínas de transporte (Taiz & Zeiger, 2010), como o N é constituinte obrigatório dessas proteínas, menor absorção de N pode ter reduzido os teores das proteínas de transporte, afetando a passagem de íons selecionados.

O conteúdo de P e N, em folhas, e de Ca, Mg e K, em folhas, caules e raízes, é apresentado no Quadro 6. Na comparação entre os tratamentos P0 e P134, por razões óbvias, o conteúdo de P foi maior no tratamento que recebeu a incorporação do adubo fosfatado. O teor médio de P nas folhas, nos tratamentos P0, foi de $4,4 \text{ g kg}^{-1}$, o que indica níveis adequados desse nutriente, justificado pelos níveis elevados de P no solo antes da aplicação dos tratamentos (Quadro

1). Epstein & Bloom (2004) sugere que 2,0 g kg⁻¹ como valor suficiente no teor de P para a maioria das culturas.

Quadro 5. Fósforo total (P_{total}), nitrogênio total (N_{total}) e teores de Ca, Mg, Na e K em folhas, caules e raízes de atriplex, considerando as doses de fósforo (P) e nitrogênio (N) aplicadas

P	N	P _{total}	N _{total}	Ca	Mg	Na	K
—mg dm ⁻³ —		g kg ⁻¹					
Folhas							
0	0	5,07	24,22	28,17	7,73	87,97	32,92
	20	4,80	26,36	20,53	6,94	90,21	23,83
	40	3,93	30,66	22,21	7,37	91,55	23,59
	60	4,84	33,64	21,27	7,86	93,12	30,05
	80	3,34	36,79	21,15	8,43	86,18	25,26
	Média ^{1/}		4,40A	30,33A	22,67A	7,67A	89,81A
134	0	9,82	18,48	21,78	7,24	77,68	39,15
	20	9,07	18,25	21,03	5,20	85,51	23,67
	40	8,56	20,79	21,88	6,16	85,73	17,60
	60	8,25	33,51	22,90	7,15	102,22	17,28
	80	10,41	36,33	22,59	6,88	104,76	18,08
	Média ^{1/}		9,17A	25,43B	22,04A	6,56B	90,88A
Caules							
0	0	nd ^{2/}	nd ^{2/}	37,59	2,39	7,44	19,30
	20	nd ^{2/}	nd ^{2/}	26,29	1,86	8,07	16,52
	40	nd ^{2/}	nd ^{2/}	29,17	1,81	9,68	18,24
	60	nd ^{2/}	nd ^{2/}	30,74	1,89	8,24	19,01
	80	nd ^{2/}	nd ^{2/}	29,70	1,94	8,33	17,19
	Média ^{1/}		nd ^{2/}	nd ^{2/}	30,70A	1,98A	8,35A
134	0	nd ^{2/}	nd ^{2/}	31,57	1,90	3,50	18,15
	20	nd ^{2/}	nd ^{2/}	28,93	1,80	5,20	16,23
	40	nd ^{2/}	nd ^{2/}	29,62	1,75	6,63	15,85
	60	nd ^{2/}	nd ^{2/}	29,94	1,92	19,64	16,23
	80	nd ^{2/}	nd ^{2/}	27,80	1,75	19,70	18,44
	Média ^{1/}		nd ^{2/}	nd ^{2/}	29,58A	1,82A	10,77A
Raízes							
0	0	nd ^{2/}	nd ^{2/}	25,91	6,42	16,78	19,72
	20	nd ^{2/}	nd ^{2/}	18,67	6,47	19,77	21,80
	40	nd ^{2/}	nd ^{2/}	18,75	5,77	15,12	16,31
	60	nd ^{2/}	nd ^{2/}	20,64	5,89	17,66	16,60
	80	nd ^{2/}	nd ^{2/}	20,25	6,32	9,68	16,78
	Média ^{1/}		nd ^{2/}	nd ^{2/}	20,84A	6,17A	15,80A
134	0	nd ^{2/}	nd ^{2/}	20,21	6,84	15,47	19,24
	20	nd ^{2/}	nd ^{2/}	20,31	4,49	11,23	15,84
	40	nd ^{2/}	nd ^{2/}	18,72	5,64	11,35	13,76
	60	nd ^{2/}	nd ^{2/}	20,44	5,91	14,27	11,93
	80	nd ^{2/}	nd ^{2/}	20,53	6,50	20,82	14,04
	Média ^{1/}		nd ^{2/}	nd ^{2/}	20,04A	5,95A	14,83A

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste F com $P \leq 0,05$. ^{2/} Valores não determinados.

Quadro 6. Conteúdo de fósforo e nitrogênio em folhas e de cálcio, magnésio e potássio em folhas, caules e raízes de plantas de atriplex, considerando as doses de fósforo e de nitrogênio aplicadas

P		N		Ca		Mg		K	
—mg dm ⁻³ —		—mg planta ⁻¹ —							
Folhas									
0	0	13,89	66,39	77,35	21,22	91,05			
	20	20,79	123,14	95,40	31,99	107,87			
	40	28,61	207,42	157,57	52,16	155,03			
	60	32,41	226,69	146,97	53,71	199,25			
	80	38,95	427,48	236,54	95,28	284,58			
	Média ^{1/}		26,93B	210,22A	142,76A	50,87A	167,55A		
134	0	24,83	48,28	56,79	19,17	100,59			
	20	37,78	75,40	89,72	22,06	97,97			
	40	60,76	139,63	150,00	41,56	116,74			
	60	61,33	224,28	139,66	46,11	118,86			
	80	80,74	281,84	177,57	56,07	138,98			
	Média ^{1/}		53,09A	154,34B	123,64A	37,32B	115,32B		
Caules									
0	0	nd ^{2/}	nd ^{2/}	147,55	9,44	74,58			
	20	nd ^{2/}	nd ^{2/}	135,24	10,03	83,52			
	40	nd ^{2/}	nd ^{2/}	238,52	14,47	144,59			
	60	nd ^{2/}	nd ^{2/}	208,11	12,71	118,88			
	80	nd ^{2/}	nd ^{2/}	358,66	23,66	206,03			
	Média ^{1/}		nd ^{2/}	nd ^{2/}	217,62A	14,06A	125,52A		
134	0	nd ^{2/}	nd ^{2/}	120,50	7,18	66,77			
	20	nd ^{2/}	nd ^{2/}	155,80	9,69	88,78			
	40	nd ^{2/}	nd ^{2/}	273,26	16,31	139,90			
	60	nd ^{2/}	nd ^{2/}	165,64	10,56	100,78			
	80	nd ^{2/}	nd ^{2/}	202,21	11,92	122,63			
	Média ^{1/}		nd ^{2/}	nd ^{2/}	186,01A	11,24A	104,77A		
Raízes									
0	0	nd ^{2/}	nd ^{2/}	40,27	9,60	30,29			
	20	nd ^{2/}	nd ^{2/}	37,78	13,16	43,94			
	40	nd ^{2/}	nd ^{2/}	52,14	17,39	45,29			
	60	nd ^{2/}	nd ^{2/}	50,38	13,83	41,01			
	80	nd ^{2/}	nd ^{2/}	82,08	28,16	72,36			
	Média ^{1/}		nd ^{2/}	nd ^{2/}	52,53A	16,43A	46,58A		
134	0	nd ^{2/}	nd ^{2/}	33,27	11,52	32,75			
	20	nd ^{2/}	nd ^{2/}	51,34	11,00	39,25			
	40	nd ^{2/}	nd ^{2/}	67,35	19,91	48,50			
	60	nd ^{2/}	nd ^{2/}	52,03	17,48	36,14			
	80	nd ^{2/}	nd ^{2/}	63,69	19,58	42,78			
	Média ^{1/}		nd ^{2/}	nd ^{2/}	53,74A	16,08A	40,13A		

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste F com $P \leq 0,05$. ^{2/} Valores não determinados.

As plantas dos tratamentos P134 apresentaram teor médio de $9,2 \text{ g kg}^{-1}$ de P, o que sugeriria consumo de luxo ou até mesmo toxidez. Ainda que o excesso de P possa ser transferido para polifosfato e outros fosfatos, sem afetar o crescimento (Raij, 1991), possivelmente a absorção de outros nutrientes foi prejudicada, neste caso, pelo excesso de P, como observado para os conteúdos de N, Mg e K nas folhas, quando comparados os tratamentos P0 e P134 (Quadro 6). Isso mostra que, neste caso, a aplicação de P influenciou negativamente no acúmulo destes elementos em folhas de atriplex. Esses resultados são contrários ao sinergismo, comumente relatado, existente entre a absorção de fósforo e nitrogênio em pesquisas divulgadas para outras culturas (Davidson & Howarth, 2007; Elser et al., 2007).

O acúmulo de N nas folhas de atriplex foi crescente com o incremento das doses deste nutriente, independentemente da aplicação de P no tratamento (Figura 5). Com base nas equações de regressão para produção de matéria seca de folhas (Figura 2) e para o conteúdo de N nas folhas (Figura 5), e substituindo os valores correspondentes das doses de N nos extremos do intervalo experimental (N0 e N80), foram calculadas relações entre essas duas variáveis. No tratamento P0, os valores mínimos e máximos, por planta, de produção de matéria seca e de conteúdo de N foram 3,2 e 11,1 g para a primeira, e de 75 e 417 mg, para a segunda. Realizando o quociente entre o maior e o menor valor para cada variável, os números resultantes são de 3,5 e 5,6 para a produção e conteúdo de N, respectivamente. Claramente, indica-se que o incremento no conteúdo resultou tanto do aumento de produção quanto do incremento no teor de N.

Repetindo o exercício com os tratamentos P134, observam-se valores extremos de 3,5 e 8,3 g para produção de matéria seca de folhas, e de 30 e 277 mg de N acumulado em folhas, respectivamente. Os quocientes entre os valores extremos mostram 2,4 para produção e 9,2 para o conteúdo de N na folha. Neste caso, o incremento do teor de N foi ainda mais determinante no conteúdo de N na folha que a produção de matéria seca. Pode indicar-se que o aumento da disponibilidade de N incrementou a produção de compostos nitrogenados pela planta, aumentando a síntese de aminoácidos e proteínas, além de poder estimular a fotossíntese e a respiração. O incremento de proteínas em plantas de atriplex tem importância fundamental

na alimentação animal, favorecendo a obtenção de feno de boa qualidade para nutrição de ovinos e caprinos (Meneses et al., 2012).

O acúmulo dos macronutrientes Ca, Mg e K nas folhas de atriplex também foi crescente com o aumento das doses de N, tanto para as plantas cultivadas na ausência quanto na presença de aplicação de P, nestas últimas o acúmulo foi menos expressivo que naquelas sem aplicação de P (Figura 5).

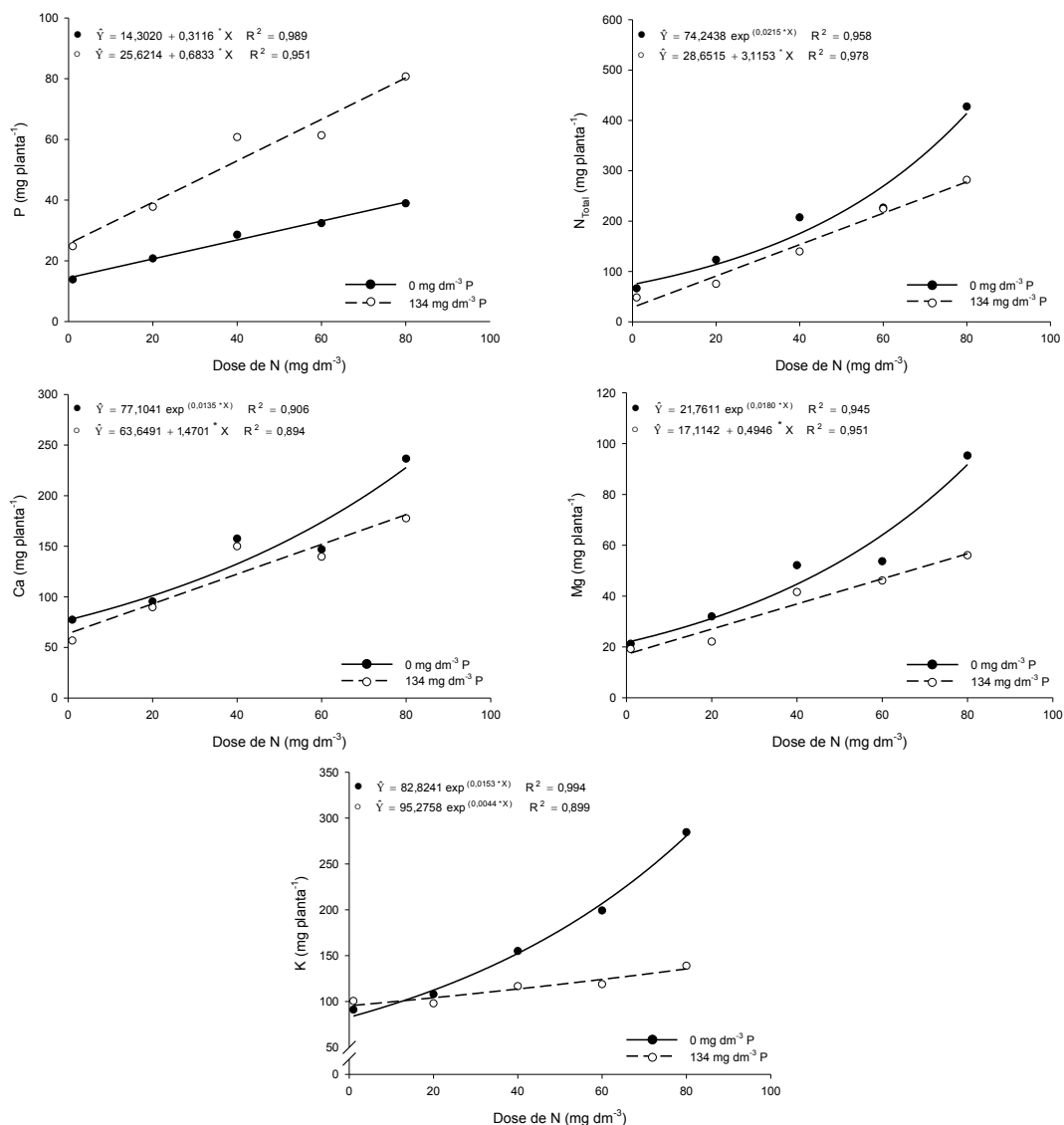


Figura 5. Conteúdo de fósforo, nitrogênio, cálcio, magnésio e potássio em folhas de atriplex, considerando as doses de nitrogênio aplicadas na ausência ou presença de adubação fosfatada. * Significativo com $P \leq 0,05$ pelo teste t. Sobrescrito dos coeficientes indica a significância com $P > 0,05$.

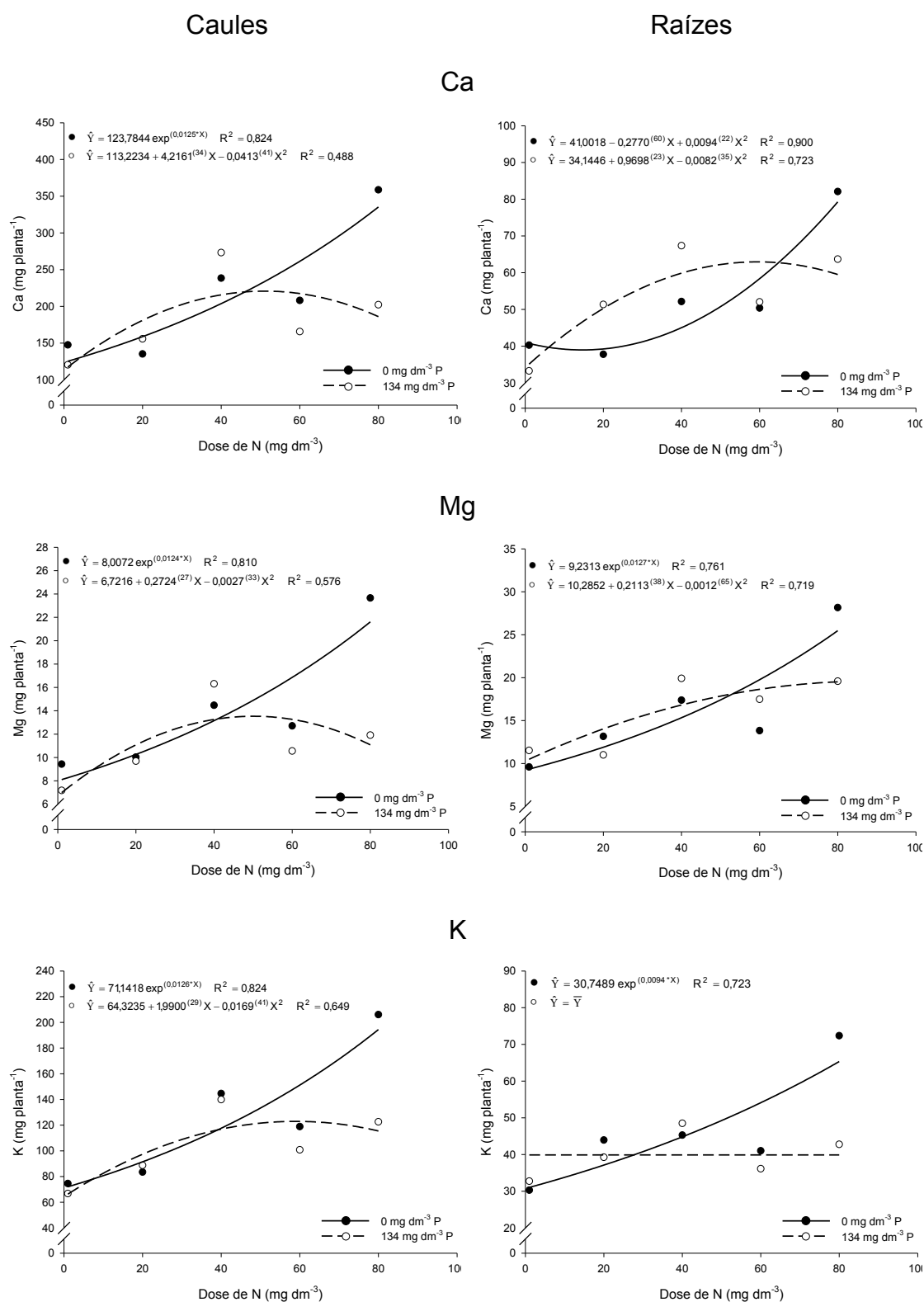


Figura 6. Conteúdo de cálcio, magnésio e potássio em caules e raízes de atriplex, considerando as doses de nitrogênio aplicadas na ausência ou presença de adubação fosfatada. * Significativo com $P \leq 0,05$ pelo teste t. Sobrescrito dos coeficientes indica a significância com $P > 0,05$.

Resposta semelhante foi encontrada para o acúmulo desses nutrientes em caules e raízes das plantas que se desenvolveram no solo sem adubação fosfatada (Figura 6). A tendência à estabilização foi percebida para os conteúdos dos macronutrientes nos caules e nas raízes das plantas cultivadas com aplicação de P (Figura 6).

4. CONCLUSÕES

- As variáveis de crescimento e produção de atriplex responderam positivamente às adubações nitrogenadas, por outro lado, sob condições de alta disponibilidade de P, estas variáveis são afetadas.
- O excesso de P é prejudicial à extração de Na pela planta, reduzindo o potencial de resposta à adubação nitrogenada.
- A atriplex é responsiva a adubação nitrogenada, pois o fornecimento de N potencializa a extração de Na e outros nutrientes, podendo ser uma técnica viável a ser adicionada no plano de manejo para recuperação de solos afetados por sais pelo processo de fitorremediação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAMPOS, F.S.; ALVES, M.C; SOUZA, Z.M. & PEREIRA, G.T. Atributos físico-hídricos de um Latossolo após a aplicação de lodo de esgoto em área degradada do Cerrado. *Cienc. Rural*, 41:796-803, 2011.
- DAVIDSON, E.A. & HOWARTH, R.W. Environmental science: Nutrients in synergy. *Nature*, 449:1000-1001, 2007.
- ELSER, J.J.; BRACKEN, M.E.S.; CLELAND, E.E.; GRUNER, D.S.; HARPOLE, W.S.; HILLEBRAND, H.; NGAI, J.T.; SEABLOOM, E.W.; SHURIN, J.B. & SMITH, J.E. Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. *Ecol. Lett.*, 10:1135-1142, 2007.
- EPSTEIN, E. & BLOOM, A.J. *Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives*. 2.ed. Sunderland, Sinauer, 2004. 400p.

- FERNANDES, M.S. & SOUZA, S.R. Absorção de nutrientes. In: FERNANDES, M.S., ed. Nutrição mineral de plantas. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p.115-152.
- GLENN, E.P.; NELSON, S.G.; AMBROSE, B.; MARTINEZ, R.; SOLIZ, D.; PABENDINSKAS, V. & HULTINE, K. Comparison of salinity tolerance of three *Atriplex* spp. in well-watered and drying soils. *Environ. Exp. Bot.*, 83:62-72, 2012.
- HANANA, M.; CAGNAC, O.; YAMAGUCHI, T.; HAMDI, S.; GHORBEL, A. & BLUMWALD, E. Molecular biology and transport properties of grapevine Na⁺/H⁺ antiporter. In: ABDELLY, C.; ÖZTÜRK, M.; ASHRAF, M. & GRIGNON C., eds. *Biosaline Agriculture and High Salinity Tolerance*. Berlim, Birkhäuser Basel, 2008. p.305–315.
- HASEGAWA, P. M.; BRESSAN, R. A.; ZHU, J.-K.; BOHNERT, H. J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.*, 51:463-499, 2000.
- KARIM, A.Q.M.B. & VLAMIS, J. Comparative study of the effects of ammonium and nitrate nitrogen in the nutrition of rice. *Plant and Soil*. 16:32-41, 1962.
- KEIFFER, C.H. & UNGAR, I.A. Germination and establishment of halophytes on brine-affected soils. *J. Appl. Ecol.*, 39:402-415, 2002.
- LEAL, I.G.; ACCIOLY, A.M.A.; NASCIMENTO, C.W.A.; FREIRE, M.B.G.S.; MONTENEGRO, A.A.A. & FERREIRA, F.L. Fitorremediação de solo salino sódico por *Atriplex nummularia* e gesso de jazida. *R. Bras. Ci. Solo*, 32:1065-1072, 2008.
- MENESES, R.; VARELA, G. & FLORES, H. Evaluación del Uso de Heno de *Atriplex nummularia* en el Consumo de Alimento, Crecimiento y Características de Canal de Cabritos Criollos. *Chilean journal of agricultural research*, 72:74-79, 2012.
- NORONHA, N. C.; ANDRADE, C. A. DE; LIMONGE, F. C.; CERRI, C.C., CERRI, C.E.P., PICCOLO, M.C. & FEIGL, B.J. Recovery of degraded

- pasture in Rondônia: macronutrients and productivity of *Brachiaria brizantha*. R. Bras. Ci. Solo, 34:1711-1720, 2010.
- NOVAIS, R.F.; SMYTH, T.J. & NUNES, F.N. Fósforo. In: NOVAIS, R.F., ALVAREZ V., V.H., BARROS, N.F., FONTES, R.L.F., CANTARUTTI, R.B. & NEVES, J.C.L., ed. Fertilidade do solo. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p.471-550.
- OLSEN, S.R.; COLE, C.V.; WATANABE, F.S. & DEAN, L.A. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. Washington, USDA, 1954. (USDA Circ., 939)
- PEREIRA, J.R. & FARIA, C.M.B. Sorção de fósforo em alguns solos do semi-árido do Nordeste Brasileiro. Pesqui. Agropecuária Bras. 33:1179-1184, 1998.
- RAIJ, B.V., 1991. Fertilidade do solo e adubação. Piracicaba, Editora Agronômica Ceres, 1991. 360p.
- REDONDO-GÓMEZ, S.; MATEOS-NARANJO, E.; DAVY, A.J.; FERNÁNDEZ-MUÑOZ, F.; CASTELLANOS, E.M.; LUQUE, T. & FIGUEROA, M.E. Growth and Photosynthetic Responses to Salinity of the Salt-marsh Shrub *Atriplex portulacoides*. Ann. Bot., 100:555-563, 2007.
- ROVEDDER, A. P. M.; ELTZ, F. L. F.; DRESCHER, M. S.; SCHENATO, R. B. & ANTONIOLLI, Z. I. Organismos edáficos como bioindicadores da recuperação de solos degradados por arenização no Bioma Pampa. Cienc. Rural, 39:61-1068, 2009.
- SANTOS, M.A.; FREIRE, M.B.G.S.; ALMEIDA, B.G.; LINS, C.M.T. & SILVA, E.M. Dinâmica de íons em solo salino-sódico sob fitorremediação com *Atriplex nummularia* e aplicação de gesso. R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental, 17:397-404, 2013.
- SILVEIRA, J.A.G.; ARAÚJO, S.A.M.; LIMA, J.P.M.S. & VIÉGAS, R.A. Roots and leaves display contrasting osmotic adjustment mechanisms in response to NaCl-salinity in *Atriplex nummularia*. Environ. Exp. Bot., 66:1-8, 2009.

- SOUZA, E.R.; FREIRE, M.B.G.S.; CUNHA, K.P.V.; NASCIMENTO, C.W.A.; RUIZ, H.A. & LINS, C.M.T. Biomass, anatomical changes and osmotic potential in *Atriplex nummularia* Lindl. cultivated in sodic saline soil under water stress. *Environ. Exp. Bot.*, 82:20-27, 2012.
- SOUZA, E.R.; FREIRE, M.B.G.S.; MELO, D.V.M. DE & MONTENEGRO, A.A.A. Management of *Atriplex Nummularia* Lindl. in a salt affected soil in a semi-arid region of Brazil. *Int. J. Phytoremediat.*, 16:73-85, 2014 (in press).
- SOUZA, E.R.; FREIRE, M.B.G.S.; NASCIMENTO, C.W.A.; MONTENEGRO, A.A.A.; FREIRE, F.J. & MELO, H.F. Fitoextração de sais pela *Atriplex nummularia* Lindl. sob estresse hídrico em solo salino-sódico. *R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental*, 15:477-483, 2011.
- SOUZA, S.R. & FERNANDES, M.S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M. S., ed. *Nutrição mineral de plantas*. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p.215-254.
- TAIZ, L. & ZEIGER, E. *Plant physiology*. 5.ed. Sunderland, Sinauer, 2010. 782p.
- United States Salinity Laboratory Staff - USSLS. *Diagnosis and improvement of saline and alkali soils*. Washington, DC, United States Department of Agriculture, 1954. 160p. (Agriculture Handbook No. 60)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A atriplex, em sua concepção de planta halófito e características intrínsecas, possui potencialidade na extração de íons Na, isso é irrefutável. A sua participação na remediação de solos afetados por sais é, sem sombra de dúvidas, uma alternativa viável e promissora para melhoria de áreas degradadas ou em processo de degradação. Seja do ponto de vista de revegetação ou reestabelecimento para incorporação na produção agrícola.

A fertilização da atriplex é uma estratégia inovadora e pode ser fator chave para acelerar o processo de fitorremediação. Ainda que pioneira, a pesquisa tornou perceptível a resposta positiva da planta em condições de maior disponibilidade de nitrogênio. Contrariamente, o excesso de fósforo reduz o potencial produtivo da planta, incorrendo em consequências negativas na extração de sais do solo. Análise profunda dos parâmetros deduzidos da medida de fluorescência da clorofila *a* foi fundamental para identificar os efeitos prejudiciais do excesso do macronutriente. Portanto, ainda que a halófito consiga ajustar-se fisiologicamente das mais variadas formas para suportar elevadas concentrações de sais no solo, a maquinaria fotossintética necessita estar em perfeito equilíbrio para que o desenvolvimento pleno da planta ocorra de forma eficiente.

As trocas gasosas em atriplex são afetadas pelo incremento de fósforo e nitrogênio. O primeiro (fósforo) aumenta a condutância estomática

no período noturno, em função da maior pressão de turgor possivelmente ocasionada por elevadas concentrações de ATP em células guardas. Fator negativo tendo em vista a baixa disponibilidade de água no solo. O segundo (nitrogênio) é eficiente em reduzir a condutância estomática. Ponto positivo quanto aos aspectos de economia de água. Por outro lado, negativo quanto ao influxo de CO_2 . Muito embora seja uma planta com mecanismo concentrador de CO_2 .

A redução da condutância estomática no período do dia sugere um comportamento diferenciado que pode estar relacionado a alterações no metabolismo do carbono. É um comportamento evolutivo típico de plantas CAM intencionalmente realizado para tornar-se mais eficiente no uso da água. Estudos específicos necessitam ser realizados para tentar identificar essas possíveis alterações fisiológicas. Podem trazer informações relevantes a respeito de ajustes estratégicos realizados pela planta que serão úteis para uma conjectura atual de aquecimento global.

Adicionalmente, é imprescindível que as pesquisas sejam continuadas principalmente no âmbito de ferramentas que possam aprimorar a técnica de fitorremediação de solos afetados por sais. Foi perceptível a redução do pH, CE e Na do solo, que sob valores elevados causam danos, na maioria das vezes, incontornáveis para a maior parte das culturas agrícolas.

Portanto, a adubação nitrogenada em atriplex tem potencial e a utilização de fertilizantes minerais ou orgânicos poderá ser incluída no plano de manejo quando consolidada sua eficiência em estimular a extração de sais do solo.

APÊNDICE

APÊNDICE

Quadro 1A. Análise de variância dos parâmetros dos transientes da fluorescência da clorofila *a* e do teste-JIP F_0 , F_j , F_M , F_V , V_j e F_V/F_M , considerando as doses de P e N

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio						
		F_0	F_j	F_i	F_M	F_V	V_j	F_V/F_M
Blocos	3	54410	209956	1841612	3472452	3719189	0,003*	0,001
N	4	1654096*	1491281	1131294	724041	430146	0,001	0,001
P	1	198	1041556	1227073	1901089	1862497	0,001	0,000
N x P	4	266686	315882	1498444	2687062	3272197	0,001	0,001
Resíduo	27	2819598	889526	2662089	3334323	3246597	0,001	0,001
CV (%)		7,61	7,81	9,14	9,13	12,16	6,96	4,41

* Significativo com $P \leq 0,05$ pelo teste F.

Quadro 2A. Análise de variância dos parâmetros dos transientes da fluorescência da clorofila *a* e do teste-JIP M_0 , S_m , N, ET_0/TR_0 , ET_0/ABS , DI_0/RC e DI_0/CS_0 , considerando as doses de P e N

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio						
		M_0	S_m	N	ET_0/TR_0	ET_0/ABS	DI_0/RC	DI_0/CS_0
Blocos	3	0,007	51577684150	281829785791	0,003*	0,003	0,011	32411
N	4	0,017	18471858452	178905847573	0,002	0,002	0,020	91370
P	1	0,010	7741524465	71847282153	0,001	0,000	0,000	1199
N x P	4	0,010	158250376182	753804351849*	0,001	0,002	0,025	53548
Resíduo	27	0,008	63037819653	262028684542	0,001	0,001	0,022	46294
CV (%)		9,29	27,36	28,40	6,75	10,11	20,66	18,59

* Significativo com $P \leq 0,05$ pelo teste F.

Quadro 3A. Análise de variância dos parâmetros dos transientes da fluorescência da clorofila *a* e do teste-JIP TR_0/CS_0 , ET_0/CS_0 , RC/CS_0 , ET_0/RC , TR_0/RC , ABS/RC , ABS/CS_0 e TR_0/ABS , considerando as doses de P e N

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio							
		TR_0/CS_0	ET_0/CS_0	RC/CS_0	ET_0/RC	TR_0/RC	ABS/RC	ABS/CS_0	TR_0/ABS
Blocos	3	16765	55769	3210	0,025*	0,013	0,010	18137	0,001
N	4	124568	5598	9396	0,003	0,009	0,050	413524*	0,001
P	1	2372	7411	1335	0,001	0,005	0,005	198	0,000
N x P	4	14158	15311	5349	0,003	0,009	0,048	66672	0,001
Resíduo	27	53343	22440	8649	0,003	0,007	0,043	112784	0,001
CV (%)		6,49	8,31	5,07	6,95	4,49	7,40	7,61	4,41

* Significativo com $P \leq 0,05$ pelo teste F.

Quadro 4A. Análise de variância da condutância estomática determinada em quatro períodos do dia nas plantas de atriplex, considerando as doses de P e N

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio			
		6-7 h	12-13 h	17-18 h	21-22 h
Blocos	3	2590*	692	437	1376*
N	4	939	419	273	517
P	1	571	16	239	874*
N x P	4	799	578	275	69
Resíduo	27	512	739	443	188
CV (%)		20,28	44,61	33,08	8,65

* Significativo com $P \leq 0,05$ pelo teste F.

Quadro 5A. Análise de variância da condutância estomática determinada em quatro períodos do dia nas plantas de atriplex, considerando as doses de P e N

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio
		Condutância estomática
Blocos	3	2906*
N	1	1328*
Hora	16	11534*
N x H	16	214
Resíduo	99	230
CV (%)		21,94

* Significativo com $P \leq 0,05$ pelo teste F.

Quadro 6A. Análise de variância dos potencial hídrico (PH), potencial osmótico (PO) e potencial de pressão (PP) determinados nas plantas de atriplex, considerando as doses de P e N

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio		
		Potencial total	Potencial osmótico	Potencial de pressão
Blocos	3	0,236	2,017*	0,900
N	4	0,449	0,843	0,119
P	1	2,554*	0,067	1,792*
N x P	4	1,926*	1,814*	0,134
Resíduo	27	0,345	0,478	0,373
CV (%)		15,20	14,36	73,96

* Significativo com $P \leq 0,05$ pelo teste F.

Quadro 7A. Análise de variância da atividade das enzimas ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) e teor e conteúdo de proteína solúvel (TP e CP) em folhas de atriplex, considerando as doses de P e N

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio			
		APX	CAT	TP	CP
Blocos	3	2,452	0,012*	4815	0,428
N	4	1,300	0,004	19023*	4,746*
P	1	2,342	0,006*	63833*	3,651*
N x P	4	3,323	0,003	7972	0,197
Resíduo	27	1,439	0,001	5001	0,654
CV (%)		16,96	23,09	43,96	78,13

* Significativo com $P \leq 0,05$ pelo teste F.

Quadro 8A. Análise de variância do diâmetro do caule (d), altura da planta (h), produção de matéria fresca da parte aérea (MFPA) e produção de matéria seca de folhas (MSF), caules (MSC), raízes (MSR) e total (MST) de plantas de atriplex, considerando as doses de P e N

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio						
		d	h	MFPA	MSF	MSC	MSR	MST
Blocos	3	59	286	128	1,023	1,188	0,513	5
N	4	87	336*	2873*	58,073*	52,658*	5,468*	289*
P	1	67	87	133	5,159	6,166	0,120	19
N x P	4	44	30	127	2,120	5,586	0,716	21
Resíduo	25	42	115	376	6,247	14,262	1,458	52
CV (%)		112,93	20,00	52,05	54,40	58,31	48,95	53,21

* Significativo com $P \leq 0,05$ pelo teste F.

Quadro 9A. Análise de variância do conteúdo de Na em folhas (NaF), caules (NaC), raízes (NaR), parte aérea (NaPA) e plantas de atriplex (NaT = NaR + NaPA), considerando as doses de P e N

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio				
		NaF	NaC	NaR	NaPA	NaT
Blocos	3	14125	2282*	317	27104	27534
N	4	15480*	693	53	9623*	8251*
P	1	545523	9868*	682	699939	743741
N x P	4	1707	1562*	127	4518	4591
Resíduo	25	44138	519	375	50673	57231
CV (%)		37,68	38,99	48,56	36,64	36,52

* Significativo com $P \leq 0,05$ pelo teste F.

Quadro 10A. Análise de variância das características do extrato da pasta de saturação e valores do sódio trocável (Na_T) após a finalização do ensaio, considerando as doses de fósforo e nitrogênio aplicadas e a profundidade de amostragem na coluna de solo

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio						
		pH _{ES}	CE _{ES}	Ca _{ES}	Mg _{ES}	Na _{ES}	RAS	Na _T
Profundidade 0-30 cm								
Blocos	3	0,020	13,218	1,187	0,046	637*	1994*	5,426*
N	4	0,064	34,879	3,658*	0,193	149	1552*	6,794*
P	1	0,000	11,267	19,041*	0,000	24	4005*	9,999*
N x P	4	0,080	37,286	0,345	0,148	98	189	0,679
Resíduo	25	0,074	24,464	0,614	0,098	85	251	0,552
CV (%)		3,65	20,32	30,95	24,06	28,17	22,25	9,09
Profundidade 30-60 cm								
Blocos	3	1,187*	14,995	0,044*	0,004	8416*	558242*	2,895*
N	4	0,186	12,029	0,023	0,004	316	71906	0,682
P	1	0,545	0,794	0,084*	0,010*	289	49439	0,240
N x P	4	0,194	6,089	0,007	0,001	355	32696	0,741
Resíduo	25	0,173	8,788	0,010	0,001	505	26123	0,440
CV (%)		4,73	5,48	21,65	47,49	15,07	16,64	5,13

* Significativo com $P \leq 0,05$ pelo teste F.

Quadro 11A. Análise de variância do conteúdo de fósforo e nitrogênio em folhas e de cálcio, magnésio e potássio em folhas, caules e raízes de plantas de atriplex, considerando as doses de P e N

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio				
		P	N	Ca	Mg	K
Folhas						
Blocos	3	224	1841	1306	368	77
N	4	6220*	104396*	23276*	3670*	17184*
P	1	2035*	29938*	3811	1851*	26173*
N x P	4	328	5805	987	414	7414*
Resíduo	25	320	6049	2216	343	1971
CV (%)		65,41	42,33	35,21	41,66	31,09
Caules						
Blocos	3	-	-	12593	24	82
N	4	-	-	33762*	122*	11791*
P	1	-	-	12449	86	4548
N x P	4	-	-	11038	53	2426
Resíduo	25	-	-	8907	34	2303
CV (%)		-	-	46,57	45,86	41,48
Raízes						
Blocos	3	-	-	8	67	259
N	4	-	-	1538*	215*	769
P	1	-	-	9	2	429
N x P	4	-	-	384	45	359
Resíduo	25	-	-	475	61	356
CV (%)		-	-	41,05	48,04	43,36

* Significativo com $P \leq 0,05$ pelo teste F.