

# EFEITOS DO NITROGÊNIO E DO DÉFICE HÍDRICO SOBRE AS TROCAS GASOSAS, COMPOSIÇÃO ISOTÓPICA DO CARBONO E EMISSÃO DE FLUORESCÊNCIA EM *Coffea canephora*<sup>1</sup>

Fábio M. DA MATTA (DBV/UFV; fdamatta@mail.ufv.br), Rodolfo LOOS (DBV/UFV), Carlos DUCATTI (UNESP), Emerson A. SILVA (DBV/UFV), Marcelo E. LOUREIRO (DBV/UFV)

**RESUMO:** Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação com o clone EMCAPER 99 (*C. canephora*), cultivados em vasos com 18 L de solo. As plantas foram submetidas a três níveis de nitrogênio (N) e dois regimes hídricos (irrigação diária e irrigação a cada quatro dias, durante um mês). Nos cafeeiros irrigados, a taxa de assimilação de carbono (*A*), mas não a condutância estomática (*g<sub>s</sub>*) ou a taxa de transpiração (*E*), correlacionou-se com o teor de N foliar. As plantas sob deficiência hídrica exibiram decréscimos em *A* de 66% a 80%, enquanto *g<sub>s</sub>* decresceu quase à metade e *E*, cerca de 33%, independentemente dos níveis de N. A composição isotópica do carbono (<sup>13</sup>δC), determinada em folhas expandidas, permaneceu inalterada, na medida em que as plantas foram desidratadas, apesar de ser menor nas plantas deficientes em N. Por outro lado, <sup>13</sup>δC aumentou em extensão semelhante nas folhas em expansão de plantas sob deficiência hídrica, sem efeitos dos níveis de N aplicados. Em geral, <sup>13</sup>δC e o teor de N foliar foram correlacionados, sugerindo maior eficiência do uso da água em plantas bem supridas com N. Aparentemente, N pode acarretar alterações na eficiência do uso da água, quer em plantas irrigadas quer nas sob estresse hídrico, via ajustes em *A*, mas com pouco ou nenhum efeito sobre o comportamento estomático.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Coffea canephora*, composição isotópica do carbono, condutância estomática, déficit hídrico, eficiência do uso da água, emissão de fluorescência, fotossíntese, deficiência de nitrogênio.

**ABSTRACT:** Greenhouse-grown 18 L-potted *C. canephora* clone EMCAPER 99 plants were submitted to three nitrogen (N) levels and two water regimes (daily irrigation and irrigation every four days during a month). In watered plants, carbon assimilation rate (*A*), unlike both stomatal conductance (*g<sub>s</sub>*) and transpiration rate (*E*), was shown to be well correlated with leaf N status. Droughted plants exhibited depressions in *A* from 66% to 80%, whereas *g<sub>s</sub>* was nearly halved and *E* decreased by one-third, irrespective the N treatments. Carbon isotope composition (<sup>13</sup>δC), as determined in young expanded leaves, remained unchanged as the plants were water-stressed, despite its being lower in N-deficient plants. On the other hand, <sup>13</sup>δC increased similarly in expanding, droughted leaves, regardless of the N treatments. In general, <sup>13</sup>δC and leaf N were correlated, suggesting an increased water use efficiency as N levels rose. Apparently N might bring about changes in water use efficiency in watered or droughted coffee plants through variations in *A* with little or no effect on stomatal behaviour.

**KEY WORDS:** carbon isotope composition, *Coffea canephora*, fluorescence emission, nitrogen deficiency, photosynthesis, stomatal conductance, water deficit, water use efficiency.

## INTRODUÇÃO

O nitrogênio (N) pode afetar profundamente as trocas gasosas e as relações hídricas das plantas. Como regra, as taxas de fotossíntese decrescem com a redução dos teores foliares de N; por outro lado, as respostas dos estômatos à deficiência de N é variável, ocorrendo desde incrementos (Ciompi et al., 1996) a decréscimos (Hák e Nátr, 1987; Lima et al., 2000) na condutância estomática (*g<sub>s</sub>*). Portanto, é comum que a eficiência do uso da água seja também afetada pela disponibilidade do N.

A eficiência do uso da água é estreitamente associada à pressão parcial interna de CO<sub>2</sub> integrada ao longo do tempo que, por sua vez, pode ser estimada a partir da abundância relativa dos isótopos estáveis <sup>13</sup>C e <sup>12</sup>C (<sup>13</sup>δC) no material vegetal. Desses isótopos, o pesado, em virtude de efeitos de massa, difunde-se desde a atmosfera e reage nos sítios de carboxilação a velocidades menores em relação ao isótopo <sup>12</sup>C. Portanto, as plantas discriminam <sup>13</sup>C durante a fixação fotossintética do CO<sub>2</sub>, em relação ao reservatório de carbono na atmosfera (Farquhar et al., 1989). Diante dessas considerações, pode-se inferir que <sup>13</sup>δC é influenciada por *g<sub>s</sub>*, assim como pela capacidade fotossintética do mesófilo que, por seu turno, são influenciadas por variáveis

<sup>1</sup> Trabalho financiado pelo CONSÓRCIO BRASILEIRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DO CAFÉ e pela FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE MINAS GERAIS. R. Loos foi bolsista de Iniciação Científica do CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO durante a execução dos experimentos.

ambientes, morfológicas e fisiológicas ao longo do tempo (Jefferies e Mackerron, 1996). Ressalte-se que valores mais negativos de  $^{13}\text{C}$  são associados a menor eficiência do uso da água.

Pretendeu-se, neste trabalho, avaliar os efeitos do N sobre as trocas gasosas e a eficiência do uso da água em cafeeiros irrigados e sob deficiência hídrica. Foi também analisada a emissão da fluorescência para avaliar a funcionalidade do aparelho fotossintético sob limitações hídrica e de N.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas plantas de *Coffea canephora* Pierre clone EMCAPER 99, cultivadas em casa de vegetação, sob irradiância natural, em vasos com capacidade para 18 L de substrato, constituído de uma mistura de solo e esterco, na proporção de 3:1. Elas foram irrigadas diariamente e receberam, uma vez por semana, 500 mL de solução de Hoagland completa (Hoagland e Arnon, 1950). Quando atingiram cinco a seis pares de folhas, foram divididas em três lotes: um deles recebeu solução de Hoagland sem N (0N), outro, solução de Hoagland completa (1N) e um terceiro lote, solução de Hoagland completa mais 10 mmol de N (2N), supridos na forma de nitrato de amônio. Após cerca de seis meses, quando as plantas do lote 0N apresentavam sintomas visuais de deficiência de N, foram divididas em dois blocos, sendo um irrigado diariamente e o outro, a cada quatro dias, durante um mês. Nas plantas sob déficit hídrico, as medições foram feitas decorridos quatro dias da última irrigação, quando o potencial hídrico de antemã atingiu valores da ordem de  $-2,21 \pm 0,22$  MPa, contra  $-0,14 \pm 0,01$  MPa nas plantas-controle.

*A condutância estomática ao vapor d'água ( $g_s$ ), a taxa instantânea de transpiração (E) e a taxa de assimilação líquida de carbono (A) foram medidas em folhas completamente expandidas do terceiro par a partir do ápice, em sistema aberto, sob luz saturante, por volta das 9:00 h, com um analisador de gases a infravermelho portátil (LCA-2, ADC, Hoddesdon, Reino Unido), conforme Da Matta et al. (1997).*

A eficiência do uso da água foi estimada a partir de  $\delta^{13}\text{C}$ . Folhas do primeiro e terceiro pares a partir do ápice de ramos plagiotrópicos foram coletadas, secas a 70°C por 48 h e moídas finamente. Amostras foram enviadas para o Centro de Isótopos Estáveis da Universidade Estadual Paulista (Botucatu, SP), onde foi determinada a abundância relativa dos isótopos  $^{13}\text{C}$  e  $^{12}\text{C}$ , via espectrometria de massa. Com esses dados, estimou-se a eficiência do uso da água, por meio das equações descritas por Farquhar et al. (1982). A composição isotópica do carbono foi expressa em relação ao padrão Pee Dee Belemnite (Farquhar et al., 1989).

Os parâmetros de fluorescência foram medidos em folhas totalmente expandidas do terceiro par a partir do ápice de ramos plagiotrópicos, utilizando-se um fluorômetro com amplitude de pulso modulado (FMS2, Hansatech, Norfolk, Reino Unido). As folhas, previamente adaptadas ao escuro por 30 min, foram inicialmente expostas a um fraco pulso de luz vermelho-distante, para determinação da fluorescência mínima emitida. Em seguida, um pulso de luz saturante (1s) foi aplicado, determinando-se, assim, a fluorescência máxima emitida pelas amostras adaptadas ao escuro. Subseqüentemente, as folhas foram irradiadas com luz actínica durante 300 s à irradiância de  $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  para a obtenção do nível de fluorescência constante. Em seguida, outro pulso de luz saturante foi aplicado, para a obtenção da fluorescência máxima emitida pelas amostras na presença de luz. A luz actínica foi desligada e as amostras foram irradiadas com luz vermelho-distante, para a determinação da fluorescência mínima emitida na presença de luz. Calculou-se, então, a estimativa da fração da energia solar convertida em produtos fotossintéticos (coeficiente de extinção fotoquímica – qP), a fração da energia solar dissipada como radiação térmica (coeficiente de extinção não-fotoquímica – qNP), a eficiência fotoquímica do fotossistema II (FSII), estimada por meio da razões entre fluorescências variável e máxima ( $F_v/F_m$ ) e a taxa de transporte de elétrons (ETR), conforme Genty et al. (1989).

O teor foliar de N foi estimado pelo método padrão de Kjeldahl.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após seis meses com suprimento diferencial de N, os teores foliares desse elemento foram 1,7% nas plantas que receberam solução de Hoagland sem N, 2,7% com adição de solução de Hoagland completa, e 3,2% nas plantas que receberam solução de Hoagland mais 10 mmol de N. Os teores de N nas plantas sob deficiência hídrica foram ligeiramente maiores que nas irrigadas diariamente (dados não mostrados). Diferenças nos níveis foliares de N refletiram-se em diferenças na capacidade fotossintética, na medida em que maiores níveis de N traduziram-se em incrementos nos valores de A em plantas hidratadas (Tabela 1). Com efeito, nessas plantas, A correlacionou-se positivamente com os teores foliares de N ( $r = 0,85$ ,  $p < 0,001$ ); por outro lado, nenhuma correlação significativa foi verificada entre  $g_s$  e teores de N e entre E e N. Sob deficiência hídrica, A foi reduzida severamente, proporcionalmente mais nas plantas com maior disponibilidade de N,

enquanto  $g_s$  decresceu, no máximo, à metade, e  $E$ , em torno de 33% (Tabela 1). Por conseguinte, a eficiência instantânea do uso da água ( $A/g_s$ ) nas plantas desidratadas, independentemente do suprimento diferencial de N, foi reduzida, quando medida ao fim do experimento. Ressalte-se que essas conclusões referem-se a medidas instantâneas, que não refletem o curso da fotossíntese e das trocas gasosas ao longo do período de deficiência hídrica. Quando a eficiência do uso da água foi estimada de forma integrada, por meio da composição isotópica do carbono, houve invariabilidade em  $\delta^{13}\text{C}$  nas folhas completamente expandidas (Tabela 2), sugerindo que os decréscimos na fotossíntese estariam sendo acompanhados por reduções em  $g_s$ , independentemente do estado hídrico das plantas. Por outro lado, nas folhas em expansão, houve aumento em  $\delta^{13}\text{C}$  (Tabela 2) e, assim, aumento na eficiência do uso da água. As folhas em expansão estavam sendo formadas durante o período de imposição da deficiência hídrica; dessa forma, são elas que devem refletir, em maior profundidade, variações em  $\delta^{13}\text{C}$ . De qualquer modo, quer em folhas maduras, quer em folhas em expansão, o aumento da concentração foliar de nitrogênio correlacionou-se positiva e significativamente com  $\delta^{13}\text{C}$  ( $r = 0,759$ ,  $p < 0,001$ ), indicando maior eficiência do uso da água, tanto em plantas irrigadas como em plantas sob deficiência hídrica. Isso pode ter impactos diretos sobre a produção, visto que, em café, uma correlação positiva entre  $\delta^{13}\text{C}$  e produção tem sido observada.

Nas plantas irrigadas,  $\delta^{13}\text{C}$  e  $A$  foram correlacionadas ( $r = 0,74$ ,  $p < 0,01$ ), mas nenhuma relação de dependência entre  $\delta^{13}\text{C}$  e  $g_s$  foi observada ( $r = 0,028$ ). Portanto, o aumento na eficiência do uso da água deve ser reflexo, apenas, de uma maior capacidade de assimilação do mesófilo, sob maiores níveis de N. Nas plantas sob seca, foi observada uma variação similar em  $\delta^{13}\text{C}$  nas folhas em expansão em relação às folhas das plantas-controle, independentemente do nível de N aplicado (Tabela 2). Novamente, os maiores valores absolutos de  $\delta^{13}\text{C}$  nas plantas do tratamento 2N, indicativos de maior eficiência do uso da água, devem ser reflexo de maior  $A$  integrada ao longo do período de imposição do déficit hídrico, apesar de não se ter observado diferenças em  $A$  com respeito aos níveis de N nas plantas desidratadas ao fim do experimento (Tabela 2).

Tabela 1- Capacidade fotossintética ( $A$ ), condutância estomática ( $g_s$ ) e taxa transpiratória ( $E$ ) em *Coffea canephora* irrigado diariamente (controle) e irrigado a cada quatro dias, ao longo de um mês (seca). As plantas foram supridas semanalmente com solução de Hoagland sem N (0N), solução de Hoagland completa (1N) e solução de Hoagland mais 10 mmol de N (2N).  $n = 4$ ; médias seguidas de mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente ( $p = 0,05$ , teste de Newman-Keuls).

Parâmetros	0N		1N		2N	
	Controle	Seca	Controle	Seca	Controle	Seca
$A$ , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	3,4 b	1,2 c	5,3 a	1,6 c	5,8 a	1,1 c
$g_s$ , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	117 a	70 b	150 a	73 b	138 a	68 b
$E$ , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	3,0 a	2,0 b	3,0 a	2,0 b	2,9 b	1,9 b
$A/E$	1,1	0,6	1,8	0,8	2,0	0,6

A eficiência fotoquímica do FSII, avaliada pela razão  $F_v/F_m$ , não mostrou variações, quer em resposta ao déficit hídrico, quer em resposta aos níveis de N (Tabela 3), confirmando, assim, vários relatos que evidenciam uma franca tolerância da eficiência fotoquímica do FSII à falta de água e à falta de N. Respostas diferentes foram observadas nas análises dos coeficientes de extinção da fluorescência (Tabela 3). Claramente, deficiência de N, independentemente do estado hídrico da planta, acarretou um aumento substancial em  $q_{NP}$ , indicando que uma maior proporção de fótons absorvidos foi perdida como calor em vez de ser utilizada na fotoquímica. Em sentido estrito, o déficit hídrico acarretou uma redução significativa em  $q_P$  apenas nas plantas dos lotes 1N e 2N, mas sem alterações em  $q_{NP}$ . Isso sugere que o acceptor primário do FSII,  $Q_A$ , está menos oxidado, e que a conversão fotoquímica e a capacidade de transporte de elétrons para a redução do  $\text{NADP}^+$  foi reduzida. De fato, uma redução média de 25% foi observada na taxa de transporte de elétrons ao longo dos fotossistemas. É possível que essa redução tenha sido uma consequência, e não uma causa, da perda de capacidade de assimilação do carbono, na medida em que menores taxas de fotossíntese requereriam menos ATP e menos NADPH.

Tabela 2- Composição isotópica ( $\delta^{13}\text{C}$ ) de folhas (1º e 3º pares a partir do ápice de ramos plagiotrópicos) de *Coffea canephora*. Ver legenda da Tabela 1 para detalhes.

$\delta^{13}\text{C}$ (- ‰)	0N		1N		2N	
	Controle	Seca	Controle	Seca	Controle	Seca
1º par	27,24 c	25,96 b	26,94 b	25,40 a	26,42 b	25,04 a
3º par	28,05 d	28,12 d	26,81 bc	27,39 c	26,09 a	26,40 ab

Tabela 3- Razão entre fluorescência variável e máxima ( $F_v/F_m$ ), coeficiente de extinção fotoquímica (qP), coeficiente de extinção não-fotoquímica (qNP) e taxa de transporte de elétrons (ETR) em *Coffea canephora*. Ver legenda da Tabela 1 para detalhes.

Parâmetros	0N		1N		2N	
	Controle	Seca	Controle	Seca	Controle	Seca
$F_v/F_m$	0,82 a	0,81 a	0,84 a	0,83 a	0,84 a	0,82 a
QNP	0,44 b	0,40 b	0,27 a	0,21 a	0,30 a	0,26 a
QP	0,85 b	0,85 b	0,92 a	0,85 b	0,92 a	0,80 b
ETR	5,59 b	4,87 bcd	6,55 a	5,36 bcd	6,51 a	4,67 d

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CIOMPI, S.; GENTILE, E.; GUIDI, L.; SOLDATINI, G.F. The effect of nitrogen deficiency on leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters in sunflower. *Plant Sci.*, 118: 177-184, 1996.
- DA MATTA, F.M.; MAESTRI, M.; BARROS, R.S. Photosynthetic performance of two coffee species under drought. *Photosynthetica*, 34: 257-264, 1997.
- FARQUHAR, G.D.; EHLERINGER, J.R.; HUBICK, K.T. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 40: 503-537, 1989.
- FARQUHAR, G.D.; O'LEARY, M.H.; BERRY, J.A. On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Aust. J. Plant Physiol.*, 9: 121-137, 1982.
- GENTY, B.; BRIANTAIS, J.M.; VIEIRA DA SILVA, J.B. Effects of drought on primary photosynthetic processes of cotton leaves. *Plant Physiol.*, 83: 360-364, 1987.
- HÁK, R.; NÁTR, L. Effect of nitrogen starvation and recovery on gas exchange characteristics of young barley leaves. *Photosynthetica*, 21: 9-14, 1987.
- HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. *California Agric. Exp. Sta. Circ.*, 347: 1-32, 1950.
- JEFFERIES, R.A. & MACKERRON, D.K.L. Carbon isotope discrimination in irrigated and droughted potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell Environ.*, 20: 124-130, 1996.
- LIMA, J.D.; DA MATTA, F.M.; MOSQUIM, P.R. Growth attributes, xylem sap composition, and photosynthesis in common bean as affected by nitrogen and phosphorus deficiency. *J. Plant Nutr.*, 23: 937-947, 2000.

## **AVISO**

ESTA PUBLICAÇÃO PODE SER ADQUIRIDA NOS  
SEGUINTE ENDEREÇOS:

### **FUNDAÇÃO ARTHUR BERNARDES**

Edifício Sede, s/nº. - Campus Universitário da UFV  
Viçosa - MG  
Cep: 36571-000  
Tels: (31) 3891-3204 / 3899-2485  
Fax : (31) 3891-3911

### **EMBRAPA CAFÉ**

Parque Estação Biológica - PqEB - Av. W3 Norte (Final)  
Edifício Sede da Embrapa - sala 321  
Brasília - DF  
Cep: 70770-901  
Tel: (61) 448-4378  
Fax: (61) 448-4425