

PLANTAS DE *Coffea canephora* PIERRE PROPAGADAS VEGETATIVAMENTE EM CINCO VOLUMES DE RECIPIENTES: INFLUÊNCIAS SOBRE OS TEORES DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS, A EMISSÃO DA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA *a* E AS TROCAS GASOSAS

NETTO, A.T.¹; CAMPOSTRINI, E.²; OLIVEIRA, J.G.³; LIMA, J.T.⁴ e PERINI, J.L.⁵

¹Doutoranda em Produção Vegetal UENF/CCTA/LMGV/Fisiologia Vegetal <alena@uenf.br>; ²Professor Associado UENF/CCTA/LMGV/Fisiologia Vegetal <campost@uenf.br>; ³Bolsista de Fixação de Pesquisador UENF/FAPERJ; ⁴Doutorando em Produção Animal/UENF/CCTA/LEAG; ⁵Engenheiro-Agrônomo /COOABRIEL/ES.

RESUMO: Plantas de *Coffea canephora* Pierre foram cultivadas em cinco recipientes de cultivo (50, 100, 200, 300 e 3400 mL), contendo Plantmax® como substrato. As plantas cresceram sob telado com 50% de interceptação da densidade de fluxo de fótons (DFF) e foi utilizado um sistema de irrigação do tipo nebulização intermitente. Na 17^a até a 20^a semana após transplântio (SAT) e após a 22^a até a 28^a SAT foram aplicadas solução nitrogenada (N) e solução nutritiva completa (SNC), respectivamente. A solução nitrogenada foi aplicada diretamente ao substrato, e a SNC foi aplicada via água de irrigação. Em todos os recipientes de cultivo foi observada redução na razão clorofila total/carotenóides (CT/CAR) até a 20^a SAT. As plantas de *C. canephora* cultivadas nos recipientes de 3.400 mL apresentaram valores mais elevados a partir da 10^a SAT, em relação às plantas cultivadas nos demais recipientes. As plantas cultivadas nesses recipientes apresentaram o valor máximo da razão CT/CAR, próximo à 15^a SAT. Observou-se o decréscimo da eficiência fotoquímica potencial (estimada pela razão F_v/F_m) medida nas folhas das plantas cultivadas em todos os recipientes de cultivo até a 23^a SAT. As plantas cultivadas nos recipientes de 3.400 mL apresentaram as maiores eficiências fotoquímicas, expressas pelos valores elevados da relação F_v/F_m na 15^a e 17^a SAT, em relação às das plantas cultivadas nos demais recipientes. Entretanto, apenas na 15^a SAT essas plantas apresentaram um valor ótimo da relação, 0,75 a 0,85. A taxa fotossintética (A) a partir da 8^a SAT nas plantas cultivadas nos recipientes de 50, 200, 300 e 3.400 mL apresentaram incremento; após esse período, houve decréscimo dos valores de A até a 20^a SAT. No entanto, nas plantas cultivadas nos recipientes de 3.400 mL o valor máximo de A ocorreu na 15^a SAT. Esse valor coincidiu com o valor máximo obtido para as razões CT/CAR e F_v/F_m . Ao efetuar uma comparação entre os valores de A e os valores de condutância estomática (g_s), verificou-se que os valores entre a 8^a e a 23^a SAT, apresentam incremento e, em seguida, redução, exceto nas plantas cultivadas nos recipientes de 100 mL, em que o decréscimo foi constante. Esse fato evidencia que a redução nos valores de A, nesta fase, se deveu a efeitos não-estomáticos e/ou estomáticos. Os valores máximos de g_s , nas plantas cultivadas nos recipientes de 50, 100, 200 e 300 mL, verificados na 15^a SAT, não foram

coincidentes com os valores máximos de A. Possivelmente, isso se deve aos efeitos não-estomáticos, levando à redução nas razões CT/CAR e F_v/F_m e, assim, comprometendo A. Contudo, nas plantas cultivadas nos recipientes de 3.400 mL, o valor máximo de A coincidiu com os maiores valores de g_s . Embora as plantas cultivadas nos recipientes de 3.400 mL apresentassem menores valores de g_s , em relação às plantas cultivadas nos demais volumes de recipientes, os valores maiores de A podem ser explicados pelos altos valores da razão CT/CAR e da razão F_v/F_m . Possivelmente, o maior volume de substrato nos recipientes de 3.400 mL teria proporcionado maior exploração do sistema radicular, aliado à maior disponibilidade de nutrientes, os quais não foram lixiviados pela água de irrigação. Esse fato proporcionou menor comprometimento de A pelos efeitos não-estomáticos, os quais compensaram os valores reduzidos de g_s nessas plantas.

Palavras-chave:

VEGETATIVE PROPAGATION OF *Coffea canephora* PIERRE PLANTS IN FIVE POT SIZES: INFLUENCES ON PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS CONTENT, IN THE CHLOROPHYLL a FLUORESCENCE EMISSION AND IN THE GASEOUS CHANGES

ABSTRACT: *Coffea canephora* Pierre plants were grown in five pot sizes (50, 100, 200, 300 and 3400 mL), filled with Plantmax®. The plants grew under screen with 50% of interception of the photon flux density (PFD). A sprinkle intermittent irrigation system was used. After 17 to 20 weeks after transplantation (WAT) a nitrogen solution (N) and after 22 to 28 WAT a complete nutrient solution (CNS) were applied. Nitrogen solution was applied directly in the substrate and CNS was applied via water irrigation. In all pot sizes, a reduction in the total chlorophyll/caroten ratio (CT/CAR) by 20 WAT was observed. The plants of *C. canephora* grown in 3400 mL pots showed higher values since 10th WAT, compared with plants grown in the other pot sizes. The plants grown in these pots showed the higher value for CT/CAR ratio just in the 15th WAT. The decrease of photochemical efficiency was observed (F_v/F_m) in leaves of plants grown in all pot sizes by 23th SAT. The plants grown in 3400 mL pots showed the largest photochemical efficiencies, as analyzed through the higher values of F_v/F_m ratio in both 15th and 17th SAT, as compared to the plants grown in the other pot sizes. However, only in the 15th WAT those plants showed an optimum ratio value from 0,75 to 0,85. The photosynthetic rate (A) starting from the 8th WAT in the plants grown in 50, 200, 300 and 3.400 mL pots showed an increase and after that period, there was a decrease of the values of A up to 20a SAT. However, in plants grown in 3400 mL pot the higher value of A occurred in the 15th WAT. This higher value is in agreement with the higher value

obtained for CT/CAR and F_v/F_m ratios. Comparisons between A and g_s values, after 8 to 23 WAT showed an increase and thereafter a decrease, except in the plants grown in 100mL pots. In these plants, the decrease was constant. This fact shows that reduction in A values, in this phase, was due to the non-stomatal and stomatal effects. The higher values of g_s , in plants grown in 50, 100, 200 and 300 mL pots were observed in the 15th WAT and do not agree with the higher A values. This fact can be due to non-stomatal effects, being responsible the reduction in CT/CAR and F_v/F_m ratios affecting A. However, in the plants grown in 3400mL pots, the higher A values agree with the higher g_s values. Although the plants grown in 3400mL pot showed smaller g_s values, in comparison to the grown plants in other pot sizes, the larger A values can be explained by the high values of the CT/CAR and F_v/F_m ratios. Possibly, the largest medium volume in 3400mL pots would have provided a larger exploration of the root system, allied to the largest readiness of nutrients, which were not leached by the irrigation water. This fact provided a smaller commitment of A for the non-stomatal effects, which compensated the reduced values of g_s in those plants.

Key words:

INTRODUÇÃO

O confinamento do sistema radicular (CSR) é um estresse físico imposto às raízes quando as plantas crescem em recipientes de pequeno volume. Já está bem estabelecido que o confinamento das raízes induz a uma redução no crescimento da parte aérea (Carmi e Heur, 1981; Carmi et al., 1983; Ruff et al., 1987). Entretanto, os processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos não são bem conhecidos.

O efeito do confinamento do sistema radicular sobre a taxa fotossintética é muito questionável. A taxa fotossintética foi maior em feijoeiros (Carmi et al., 1983) e reduzida em plantas de fumo (Herold e McNeil, 1979), ambos cultivados em recipientes que propiciaram o CSR. Entretanto, não foram observadas alterações nas taxas fotossintéticas de plantas de soja cultivadas em condições CSR (Krizek et al., 1985). Alguns autores verificaram correlação positiva entre o volume do sistema radicular e a taxa fotossintética (Carmi, 1983; Arp, 1991; Tschaplinski e Blake, 1985). As possíveis causas da diminuição da taxa fotossintética em plantas submetidas ao CSR não estão muito claras, e algumas possíveis justificativas incluem a diminuição da disponibilidade de água, a diminuição da disponibilidade de nutrientes (Coleman et al., 1993), as respostas fito-hormonais (Sage, 1994) e/ou acúmulo de carboidratos na parte aérea (Arp, 1991). Esse acúmulo de carboidratos pode ser explicado pela diminuição da força do

dreno (raízes). Como consequência, o acúmulo de carboidratos provocaria a inibição do tipo *feedback* nas folhas-fonte (Arp, 1991; Ismail e Noor, 1996; Schaffer et al., 1997).

A medição da fluorescência da clorofila *a* é uma técnica rápida, precisa e não-destrutiva para detectar o desequilíbrio energético/metabólico da fotossíntese (Araus et al., 1998). A eficiência fotoquímica máxima, estimada pela razão F_v/F_m , pode variar numa faixa de 0,75 a 0,85 em plantas não submetidas a estresses (Bolhar-Nordenkamp et al., 1989). Essa razão é altamente correlacionada com o rendimento quântico da taxa fotossintética de folhas. A diminuição da relação F_v/F_m é um excelente indicador de efeito fotoinibitório quando as plantas estão submetidas a qualquer tipo de estresse (Araus e Hogan, 1994; Angelopoulos et al., 1996; Yang et al., 1996). Esta técnica permite avaliar, precocemente, os efeitos de diferentes estresses, antes que os sintomas relacionados se tornem externamente evidentes.

As clorofilas são mais sensíveis aos ataques oxidativos e ao dano fotoquímico, enquanto os carotenóides funcionam como antioxidantes naturais e extintores de excitações fotoinduzidas (Hendry et al., 1987). Dessa maneira, em situações de estresse nutricional, por herbicidas, hídrico, etc., as clorofilas totais são destruídas com maior intensidade do que os carotenóides (Hendry et al., 1987). Assim, a razão entre a concentração de clorofila total e a concentração de carotenóides pode ser usada como um fator de avaliação da planta.

O objetivo deste trabalho foi estudar, numa escala temporal, as trocas gasosas, a emissão da fluorescência da clorofila *a* e os teores de pigmentos fotossintéticos em plantas de *Coffea canephora* Pierre cultivadas em recipientes de cultivo de diferentes volumes.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas estacas de plantas de *Coffea canephora* Pierre (clone 07), maturação média, provenientes da Cooperativa Agrária dos Cafeicultores de São Gabriel da Palha Ltda. (COOABRIEL), Espírito Santo. As estacas foram cultivadas em recipientes de policloreto de vinila (PVC), de coloração preta de diferentes volumes (Tabela 1), contendo substrato do tipo Plantmax®. O experimento foi conduzido sob estrutura telada, com 50% de interceptação da densidade de fluxo de fótons (DFF), na Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio de Janeiro (PESAGRO – RIO), em Campos dos Goytacazes (41:15' O; 21:27' S). As estacas foram submetidas a um ambiente com nebulização intermitente, em intervalos de 10 minutos.

A partir da 17^a semana após o transplântio (SAT), foi adicionada ao substrato, semanalmente, solução nitrogenada, na concentração de 50 mg $\text{NH}_4\text{SO}_4 \text{ L}^{-1}$ de substrato. Entre a 22^a e 28^a (SAT), foi

aplicada, via água de irrigação, solução nutritiva completa (SNC) contendo $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 2mM, KH_2PO_4 0,5mM, KNO_3 2,5mM, NH_4NO_3 1mM, MgSO_4 1mM, FeEDTA 40 μM , $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 5 μM , $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2 μM , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,5 μM , $\text{NH}_4\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,086 μM e KCl 50 μM . A taxa fotossintética líquida (A, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e a condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foram determinadas na 8^a, 12^a, 15^a, 17^a, 23^a, 26^a e 32^a SAT, por meio do sistema portátil de medição das trocas gasosas, modelo LI-6200 (LI-COR, Lincoln, NE, USA). Todas as medidas foram efetuadas na 3^a ou 4^a folha, contadas a partir do ápice de ramos plagiotrópicos. A variável da fluorescência emitida pela clorofila *a* especial foi determinada simultaneamente e na mesma folha com as medidas da taxa fotossintética líquida, por meio de um fluorímetro de luz modulada (modelo Mini-Pam, Walz, Alemanha). Os teores de pigmentos fotossintéticos foram determinados, semanalmente, a partir do início do transplântio, por meio do medidor portátil do teor de clorofila (modelo SPAD-502, Minolta, Japão). A relação clorofila total/carotenóides (CT/CAR) foi obtida por meio da equação de regressão, $Y = 0,5227 + 0,1589X + 0,001X^2$, $R^2 = 0,95$, em que Y é o valor da relação CT/CAR e X é o valor obtido pelo aparelho (Netto et al., 2001). As concentrações de clorofila total e de carotenóides foram obtidas em laboratório, segundo a metodologia proposta por Wellburn (1994). O delineamento relacionado à característica razão CT/CAR foi em esquema fatorial com delineamento em blocos ao acaso, com seis repetições. Os fatores foram o volume e o tempo. O experimento em que foram determinadas as taxas de fotossíntese líquida (A), a condutância estomática (g_s) e a fluorescência da clorofila *a* foi conduzido em parcela subdividida: a parcela foi o volume e a sub-parcela, o tempo. O delineamento foi em blocos ao acaso, com seis repetições. Os resultados foram submetidos à análise de regressão com teste F, usando-se o quadrado médio do resíduo da variância total. Os modelos de regressão foram escolhidos de acordo com a significância a 5% de probabilidade.

RESULTADOS

Em todos os recipientes de cultivo, foi observada redução na razão CT/CAR até a 20^a SAT (Figura 1). Após a aplicação da SNC (22^a SAT) foi verificado incremento naquela razão. Uma exceção foi observada com as plantas cultivadas nos recipientes de 3.400 mL. As plantas de *C. canephora* cultivadas nos recipientes de 3.400 mL apresentaram valores mais elevados de CT/CAR a partir da 10^a SAT, em relação às plantas cultivadas nos demais recipientes. As plantas cultivadas neste recipiente apresentaram o valor máximo da relação CT/CAR próximo à 15^a SAT. Observou-se o decréscimo da relação F_v/F_m (Figura 2) medida nas folhas das plantas cultivadas em todos os recipientes de cultivo até a 23^a SAT. Entretanto, foi verificada uma resposta diferenciada na 12^a SAT, nas folhas das plantas cultivadas nos

recipientes de 3.400 mL, em relação às das plantas cultivadas nos demais recipientes. Nas plantas cultivadas nos recipientes de 300 e 3.400 mL, a relação F_v/F_m atingiu um valor máximo na 12^a/15^a e 15^a/17^a SAT. Os maiores valores da relação F_v/F_m foram causados pelos elevados valores da relação CT/CAR, os quais foram proporcionados pelos elevados valores dos teores de N-total na parte aérea das plantas (dados não mostrados). Assim, as plantas cultivadas no recipiente de 3.400 mL apresentaram as maiores eficiências fotoquímicas, expressas pelos valores elevados da relação F_v/F_m na 15^a e 17^a SAT, em relação às das plantas cultivadas nos demais recipientes. No entanto, apenas na 15^a SAT as plantas cultivadas nos recipientes de 3.400 mL apresentavam um valor ótimo da relação, 0,75 a 0,85 (Bolhàr-Nordenkpft, 1989). Após a aplicação de SNC, foi verificado incremento acentuado nos valores da relação F_v/F_m , a justificativa para o fato está relacionada com a informação citada anteriormente. Observou-se que a taxa fotossintética líquida (A) a partir da 8^a SAT, nas plantas cultivadas nos recipientes de 50, 200, 300 e 3.400 mL, apresentaram incremento, e, após esse período, houve decréscimo dos valores de A até a 20^a SAT (Figura 2). Entretanto, nas plantas cultivadas no recipiente de 3.400 mL o valor máximo de A ocorreu na 15^a SAT. Esse valor coincide com o valor máximo obtido para a relação CT/CAR e da relação F_v/F_m . As respostas de A foram semelhantes às respostas da relação F_v/F_m e da relação CT/CAR, com exceção verificada na 12^a SAT nas plantas cultivadas no recipiente de 3.400 mL. Com relação ao valor da condutância estomática, observou-se um incremento em seus valores e, após, um decréscimo até a 23^a SAT, em todos os recipientes de cultivo (Figura 3). Possivelmente, a queda da condutância estomática verificada após a 15^a SAT possa ser devida à baixa disponibilidade de K (dados não mostrados). Ao efetuar uma comparação entre os valores de A (Figura 2) e os de g_s (Figura 3), verifica-se que os valores de A, entre a 8^a e a 23^a SAT, apresentam incremento e, em seguida, redução, exceto nas plantas cultivadas nos recipientes de 100 mL, em que o decréscimo foi constante. Esse fato evidencia que a redução nos valores de A, nesta fase, se deveu aos efeitos não-estomáticos e estomáticos. Entretanto, os valores máximos de g_s , verificados na 15^a SAT, das plantas cultivadas nos recipientes de 50, 100, 200 e 300 mL, não foram coincidentes com os valores máximos de A. Possivelmente, nessa época, apesar de os estômatos estarem permitindo o acesso do CO₂ aos sítios de carboxilação da enzima Rubisco, a falta de correspondência entre A e g_s nessas plantas na 15^a SAT pode ser devida a efeitos não-estomáticos associados à deficiência de N e de K (dados não mostrados), com possíveis conseqüências sobre as relações CT/CAR e F_v/F_m , comprometendo assim a taxa fotossintética líquida. Esse fato pode ser confirmado pelos valores reduzidos da relação CT/CAR (Figura 1) e da relação F_v/F_m (Figura 2) nessa época. Contudo, entre a 8^a e a 23^a SAT, nas plantas cultivadas nos recipientes de 3.400 mL, o valor máximo de A foi verificado na 15^a e na 23^a SAT, coincidindo com os maiores valores de g_s . Embora as

plantas cultivadas nos recipientes de 3.400 mL apresentassem menores valores de g_s , entre a 12^a e a 17^a SAT, em relação aos das plantas cultivadas nos demais volumes de recipientes (Figura 3), os valores maiores de A entre a 15^a e a 17^a SAT podem ser explicados pelos altos valores da relação CT/CAR e da relação F_v/F_m . Após a aplicação da SNC, houve incremento nos valores de A em todos os recipientes de cultivo, com menor intensidade nas folhas das plantas cultivadas nos recipientes de 50 mL. A justificativa para a não resposta de A pode estar relacionada aos reduzidos valores da relação CT/CAR nesta época. É possível que o maior volume de substrato nos recipientes de 3.400 mL tenha proporcionado maior desenvolvimento do sistema radicular, aliado à maior disponibilidade de nutrientes, os quais não foram lixiviados pela água de irrigação. Esse fato proporcionou menor comprometimento de A pelos efeitos não-estomáticos, os quais compensaram os valores reduzidos de g_s nessas plantas.

Tabela 1 - Características dos recipientes de cultivo

Volume do recipiente (mL)	Altura (mm)	Diâmetro (mm)	Área da seção (mm ²)	Área da seção/Altura (mm)
50	123,45	26,76	168,05	1,36
100	148,88	36,29	227,9	1,53
200	131,4	50,57	317,58	2,42
300	193,73	52,18	327,69	1,69
3.400	308,25	132,41	1935,81	6,28

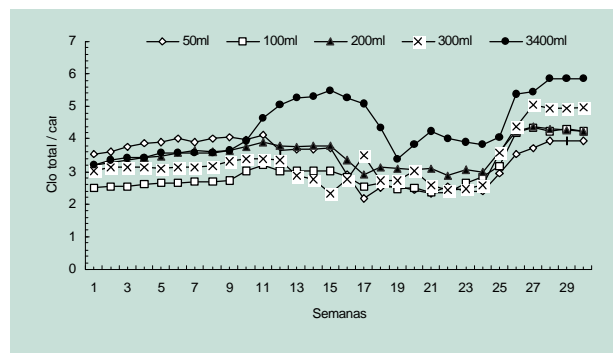


Figura 1 - Relação Clorofila total / Carotenóides em plantas de *C. canephora* Pierre cultivadas em cinco volumes de recipientes.

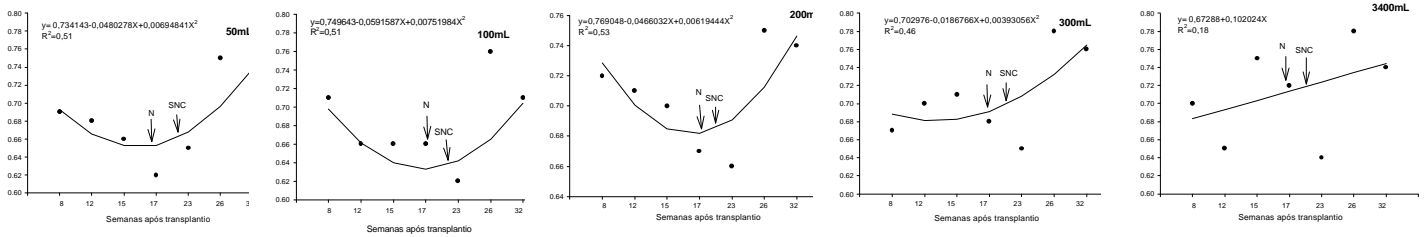


Figura 2 - Relação F_v/F_m em plantas de *C. canephora* Pierre cultivadas em cinco volumes de recipientes. As setas indicam a aplicação de solução nitrogenada (N) e solução nutritiva completa (SNC).

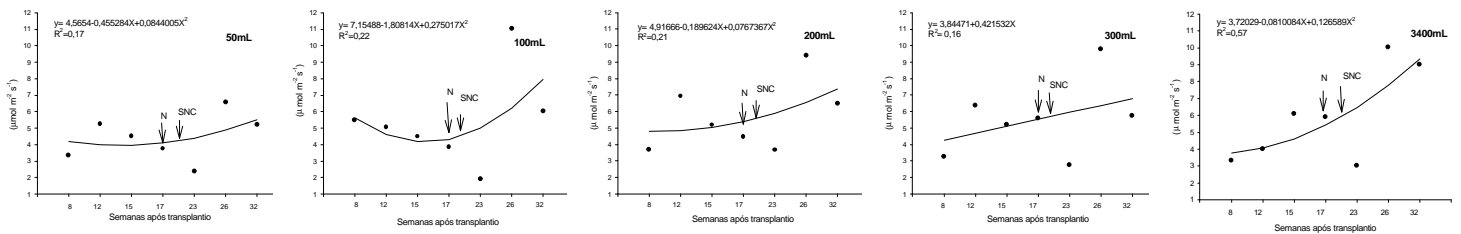


Figura 3 - Taxa fotossintética (A) em plantas de *C. canephora* Pierre cultivadas em cinco volumes de recipientes. As setas indicam a aplicação de solução nitrogenada (N) e solução nutritiva completa (SNC).

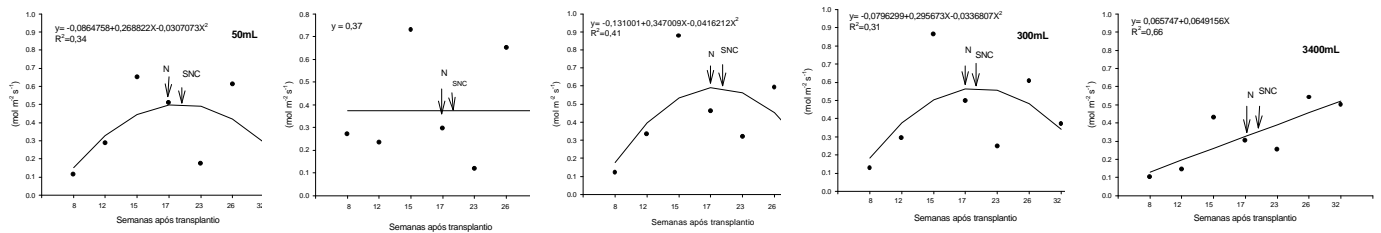


Figura 4 – Condutância estomática (g_s) em plantas de *C. canephora* Pierre cultivadas em cinco volumes de recipientes. As setas indicam a aplicação de solução nitrogenada (N) e solução nutritiva completa (SNC).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGELOPOULOS, K.; DICHIO, B.; XILOYANNIS, C. (1996). J. Exp. Bot. 47 (301): 1093-1100.
- ARAUS, J.L., AMARO, T., VOLTAS, J., NATKOUL, H., NACHIT, M.M. 1998. Field Crops Research 55: 209-223.
- ARAUS, J.L.; HOGAN, K.P. (1994). Am. J. Botany 81 (6): 726-738.
- ARP, W.J. (1991) Plant, Cell and Environment 14: 869-875.

- BOLHÀR-NORDENKAMPF, H.R., LONG, S.P.; BAKER, N.R.; ÖQUIST, G.; SCHREIBERS, U. E LECHNER, E.G. (1989). *Functional Ecology* 3: 497-514.
- CARMI, A. E HEUER, B. (1981). *Annals of Botany*, 48:519-527.
- CARMI, A., HESKET, J.D., ENOS, W.T., PETERS, D.B. (1983). *Photosynthetica* 17:240-245.
- COLEMAN, J.R., MCCONNAUGHAY, K.D.M. E BAZZAZ, F.A. (1993). *Oecologia* 93: 195-200.
- HENDRY, G.A.F., HOUGHTON, J.D., BROWN, S.B. (1987). *New Phytologist*, 107: 255-302.
- HEROLD, A. E MC NEILL, P.H. (1979) *J. of Exp. Bot*, 30, 1187-1194.
- ISMAIL, M.R. AND NOOR, K.M. (1996). *Scientia horticulturae* 66 (1-2) 51-58.
- KRIZEK, D.T, A. CARMI, R.M. MIRECKI, W.S. FREEMAN, J. BUNCE. (1985). *Journal of Experimental Botany* 36: 25-38.
- NETTO, A.T., CAMPOSTRINI, E. , OLIVEIRA, J. G. DE, YAMANISHI, O. K., BRESSAN-SMITH, R.E. (2001). *Anais do Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal, Ilhéus/Ba*.
- RUFF, M.S.; KRIZEK, D.T.; MIRECKI, R.M.; INOYE, D.W. (1987). *J. Am. Soc. of Hort. Sci.*112 (15): 763-769.
- SAGE, R.F. (1994) *Photosyntetic research* 39: 351-368.
- SCHAFFER, B.; WHILLEY, A.W. .; SEARLE, C. AND NISSEN, R.J. (1997). *J. Amer.Soc. Hort. Sci.* 122(6):849-855.
- TSCHAPLINSKI, T.J. AND BLAKE, T.J.. (1985). *Physiologia Plantarum*, 64:167-176
- WELLBURN, A.R. 1994. *J. Plant Physiol.* 144:307-313.
- YANG, G.P.; RHODES, D.; JOLY, R.J. (1996). *Aust. J. Plant Physiol.* 23 (4): 437-443.