

# Relações do N, P e K com a fluorescência da clorofila, teores de nutrientes foliares e carboidratos solúveis do caule de *Caesalpinia echinata* Lam.

Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol<sup>1,2</sup>, Emerson Campos Canal<sup>1</sup>, Vinícius Novo Gama<sup>1</sup> e Leonardo Valandro Zanetti<sup>1</sup>

Recebido: 2.06.2015; aceito: 2.02.2016

**ABSTRACT** - (Relationships of N, P, and K with the chlorophyll fluorescence, leaf nutrient accumulation, and soluble carbohydrate concentration in the stem of *Caesalpinia echinata* Lam.). The aim of this study was to evaluate the effect of N, P, and K in the accumulation of these elements in the leaf and their relations with the chlorophyll a fluorescence parameters and with the concentration of soluble carbohydrates in stems of young plants of *Caesalpinia echinata*. Eight-month-old plants were grown in polyethylene pots, which received N, P, and K in isolated form ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$ , KCl) and the combined form NPK in the ratio 10:10:10 and 04:14:08. The pots were arranged in randomized blocks. The applications were repeated each 90 days during 450 days. The results demonstrated that *C. echinata* is more responsive to N. Plants showed higher leaf N concentrations and positive correlation with the concentration of chlorophyll a and b. However, the treatments did not influence the potential quantum yield of PSII (FV/FM) and the performance index (PITOTAL). The concentration of sucrose in the stem bark was higher than that of secondary xylem and superior in fertilizers rich in P (P and NPK 04:14:08) suggesting increased demand of substrate for forming the wood in these treatments, which could result in more resistant stems and higher survival of the plants under field conditions.

**Keywords:** Brazilwood, fluorescence, nutrients, soluble carbohydrates

**RESUMO** - (Relações do N, P e K com a fluorescência da clorofila, teores de nutrientes foliares e carboidratos solúveis do caule de *Caesalpinia echinata* Lam.). Esse trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito de suplementação de N, P e K no acúmulo foliar desses elementos e suas relações com os parâmetros da fluorescência da clorofila *a* e com a concentração de carboidratos solúveis em caules de plantas jovens de *Caesalpinia echinata* Lam. Plantas com oito meses de idade foram cultivadas em vasos que receberam N, P e K na forma isolada ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$ , KCl) e combinada na proporção 10:10:10 e 04:14:08, distribuídos em blocos inteiramente casualizados. As aplicações foram repetidas a cada 90 dias durante 450 dias. Os resultados demonstraram que *C. echinata* é mais responsiva ao N. As plantas apresentaram maiores concentrações de N foliar e correlação positiva com a concentração das clorofilas *a* e *b*. No entanto, os tratamentos não influenciaram no rendimento quântico potencial do FSII (FV/FM) e no índice de desempenho (PITOTAL). A concentração da sacarose na casca do caule foi maior do que do xilema secundário e superior nas adubações fosfatada e em NPK 04:14:08 sugerindo maior demanda de substrato para a formação da madeira nesses tratamentos, o que poderia resultar em caules mais resistentes e maior capacidade de sobrevivência das plantas em condições de campo.

**Palavras-chave:** carboidratos solúveis, fluorescência, nutrientes, pau-brasil

## Introdução

Estudos recentes têm demonstrado que as arbóreas nativas tropicais respondem à aplicação de N, P e K apresentando maior crescimento e maiores teores de nutrientes foliares. De maneira geral, a fertilização com N estimulou o crescimento das espécies arbóreas tropicais *Semanea inopinata* (Cruz *et al.* 2006) e

*Dalbergia nigra* (Marques *et al.* 2006). Em algumas espécies nativas de várzea de florestas tropicais do Panamá, a adubação nitrogenada elevou para 11% a concentração de N foliar enquanto na adubação fosfatada o P acumulou em 16% e o K representou apenas 4% da concentração foliar sob influência da fertilização fosfatada (Santiago *et al.* 2011).

1. Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, Campus Alvor Queiroz Araújo, 29075-910 Vitória, ES, Brasil
2. Autor para correspondência: gcuzzuol@gmail.com

O acúmulo foliar de N, P e K em resposta à fertilização, tem influência nas reações fotossintéticas, nos pigmentos fotossintetizantes (Lambers *et al.* 2012) e nos fotoassimilados em órgãos dreno, como o caule de arbóreas (Kaakinen *et al.* 2004).

Já é bem conhecida a relação da fertilização, especialmente a nitrogenada, na concentração da clorofila (Kitajima & Hogan 2003) e na atividade fotossintética (Coste *et al.* 2005) em árvores tropicais. Além do N, outros nutrientes como o P e K também têm sido associados com variações da clorofila (Marschner 2012). Porém, seus efeitos na eficiência fotossintética e na partição de fotoassimilados em arbóreas nativas de florestas tropicais ainda não estão claros.

De maneira geral, a maior oferta de nutrientes está relacionada ao aumento da concentração de clorofila, da eficiência fotoquímica ( $F_v/F_m$ ) e de fotoassimilados em caules na fase de maior atividade celular em arbóreas de regiões temperadas (Iivonen *et al.* 2001, Kaakinen *et al.* 2004). Segundo Baker (2008), a luz que chega ao fotossistema II pode seguir três possíveis caminhos que competem entre si: as reações fotoquímicas, a fluorescência da clorofila *a* e perda por calor. Nesse sentido, a análise da fluorescência pode fornecer importantes informações sobre o estado fisiológico do vegetal bem como seu potencial em relação ao ambiente (Maxuell & Johnson 2000).

Em algumas situações especiais como maior oferta de nutrientes no solo, a força de órgãos fonte (folhas) aumenta culminando no transporte de fotoassimilados para o caule (dreno) de arbóreas (Kozlowski 1992). Nos órgãos drenos, os fotoassimilados podem: a) atender a demanda energética do metabolismo do caule em crescimento, b) ser armazenados na forma de amido (Plomion *et al.* 2001) ou c) servir de substrato para a formação da madeira (Anttonen *et al.* 2002). Dessa forma, a análise de carboidratos solúveis em caules de plantas tratadas com fertilizantes pode indicar possível atividade na síntese de polímeros estruturais constituintes da madeira como a celulose e as hemiceluloses, como também, o potencial para o armazenamento de compostos energéticos e o crescimento (Zobel & Spague 1998).

Das arbóreas nativas tropicais consideradas prioritárias para a recuperação da Mata Atlântica do Brasil a espécie *Caesalpinia echinata* Lam., o pau-brasil, tem recebido atenção especial nos últimos anos. Amplamente distribuída na costa Atlântica do Brasil no início da colonização, essa espécie chegou à beira da extinção após séculos de exploração

devido o grande interesse comercial pelo corante *braselina* presente no seu cerne e, mais recentemente, na confecção de arcos de instrumentos de corda de reconhecida qualidade internacional (Schimleck *et al.* 2009). Desse modo, estudos relacionados com a avaliação da fertilização nos parâmetros relacionados à eficiência fotoquímica de plantas de *C. echinata* com o propósito de aumentar seu plantio em áreas de ocorrência natural são relevantes.

Considerando que a razão C:N em plantas declina com o aumento da fertilização (Lambers *et al.*, 2008), pressupomos que a fertilização nitrogenada proporcione melhores atributos fisiológicos incluindo maiores concentrações de N foliar e pigmentos fotossintetizantes com reflexo na melhor eficiência fotoquímica indicada pelos maiores  $PI_{ABS}$  e  $F_v/F_m$ . Esse trabalho tem como objetivo avaliar o efeito de suplementação de N, P e K no acúmulo foliar desses elementos e suas relações com os parâmetros da fluorescência da clorofila *a* e com a concentração de carboidratos solúveis em caules de plantas jovens de *Caesalpinia echinata* Lam.

## Material e métodos

Material biológico e delineamento experimental - Sementes colhidas em maio de 2006 no bosque da Fundação Pau Brasil localizado na cidade de Glória do Goitá, Pernambuco, Brasil (8°00'07"S, 35°17'34"W) foram germinadas em placas de Petri sobre papel de filtro umedecido com água destilada e isotérmica de 25 °C sob luz contínua em câmaras de germinação (Mello & Barbedo, 2007). Plântulas com 10 dias de idade foram transferidas para tubetes de polietileno 200 mL contendo terra de floresta e mantidas em casa de vegetação sob temperatura média anual de  $27 \pm 3$  °C, fotoperíodo natural de 11:00 ± 1:00 h. sob radiação fotossinteticamente ativa (RFA) de 250-450 mmol m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>. Transcorridos seis meses, em novembro de 2007, foram selecionadas plantas homogêneas tendo em média  $3,63 \pm 0,99$  gramas de massa seca,  $8 \pm 2$  folhas,  $16,2 \pm 3,3$  cm de comprimento,  $3,9 \pm 0,3$  mm de diâmetro. As plantas foram transplantadas para vasos de polietileno com capacidade de 8 L contendo terra de floresta, sendo cultivadas em casa de vegetação por 60 dias até o início dos tratamentos.

Foram testados os efeitos de N, P e K aplicados isoladamente sendo o N na forma de sulfato de amônio ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> em 5 g por vaso), o P como superfosfato simples (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> em 5 g por vaso) e o K como cloreto

de potássio (KCl em 1,7 g por vaso). Para a forma combinada foram utilizados NPK 10:10:10 e NPK 04:14:08 (12,0 g por vaso). O tipo de adubação aplicado foi o de cobertura seguido de irrigação. As aplicações foram repetidas a cada 90 dias durante 450 dias. O experimento foi organizado em blocos casualizados constituído por quatro blocos, seis parcelas e oito repetições, em casa de vegetação, nas mesmas condições ambientais descritas anteriormente. Aos 450 dias após o início do experimento foram analisados os teores de N, P e K foliar, os pigmentos, a fluorescência da clorofila *a* e a concentração de glicose, frutose e sacarose caulinar.

**Concentração de nutrientes** - Os foliólulos das folhas medianas completamente expandidas foram lavados em água corrente e passaram por secagem em estufa com ventilação forçada em 40 °C. Os teores dos nutrientes foliares foram determinados segundo metodologia pormenorizadamente descrita por Bataglia *et al.* (1983). O N total foi determinado pela digestão Mikrokjeldahl. Para a extração de K e P utilizou-se digestão nítrico-perclórica. A determinação do P<sub>total</sub> foi feita por colorimetria (725 nm) e o K por espectrofotometria de absorção atômica.

**Pigmentos fotossintetizantes** - Os pigmentos foram extraídos a partir de foliólulos da região mediana de folhas completamente expandidas, nas mesmas folhas utilizadas para a avaliação de fluorescência aos 450 dias após o início da adubação. Para isso retiraram-se quatro discos foliares de 0,45 cm de diâmetro com o auxílio de um perfurador de rolha e pesados para a obtenção da massa fresca. Os discos foram imediatamente colocados em tubos de ensaio contendo 5 mL de dimetil sulfoxido (DMSO) saturado com CaCO<sub>3</sub> e incubados no escuro a 60 °C por 5 horas (Wyka *et al.* 2007). As leituras das absorbâncias foram realizadas nos comprimentos de onda de 470, 645, 663 nm e calculadas as concentrações dos pigmentos de acordo com as fórmulas de Lichtenthaler & Welbum (1983):

$$\begin{aligned} \text{Clor } a &= [(12,7.A_{663})-(2,69.A_{645})].V/(1000.M) \\ \text{Clor } b &= [(22,9.A_{645})-(4,68.A_{663})].V/(1000.M) \\ \text{Clor}_{\text{total}} &= [(20,2.A_{663})-(2,69.A_{645})].V/(1000.M) \\ \text{Carot} &= [(1000.A_{470})-(1,82.Chl\ a-85,02.Chl\ b)]. \\ &V/(198.1000.M) \end{aligned}$$

Onde, Clor e Carot significam clorofila e carotenóides, respectivamente. A<sub>663</sub>, A<sub>645</sub> e A<sub>470</sub> representam os valores das absorbâncias; V é o volume de DMSO em mL utilizado para a extração e M é a massa fresca dos discos.

**Fluorescência da clorofila *a*** - Para a avaliação da fluorescência da Clor *a* foram utilizados foliólulos da região mediana da primeira folha madura e completamente expandida das plantas 450 dias. As medidas de fluorescência da Clor foram realizadas em folhas intactas, ligadas a planta e adaptadas previamente ao escuro por 30 minutos. A fluorescência transiente da Clor *a* foi medida às 8:00 h por fluorômetro portátil (Handy-PEA, Hansatech Instruments Ltd., King's Lynn Norfolk, UK), induzida pela luz vermelha com pico de 650 nm de aproximadamente 3.000 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>. Para análise da fluorescência transiente da Clor *a* foi utilizado o Teste JIP (Strasser *et al.* 2004, Tsimilli-Michael & Strasser 2008), o que permite calcular os fluxos específicos por seção transversal - CS, eficiência ou rendimentos quânticos e índices de performance pormenorizadamente descrito por Yusuf *et al.* (2010) e Chen *et al.* (2011).

**Carboidratos solúveis** - Foram retiradas amostras do caule de duas plantas, por bloco, 5 cm de distância do colo medindo 0,5-1,0 g de massa fresca e 1 cm compr. As amostras foram unidas para a obtenção de massa suficiente para as análises dos carboidratos e da lignina. As amostras foram congeladas em N<sub>2</sub> líquido, conservados em ultra freezer -70 °C e, posteriormente, foram liofilizadas (Terrone modelo LS 3000). A casca foi separada do xilema e ambos foram triturados, separadamente, em moinho tipo micro-wiley. Os carboidratos solúveis foram extraídos em etanol 80% a 60 °C durante 1h. O material foi filtrado a vácuo e a fase líquida resultante do processo foi diluída até 100 mL para posterior análise. Os carboidratos solúveis (glicose, frutose e sacarose) foram determinados por cromatografia de troca aniônica de alta eficiência com detector de pulso amperométrico (HPEAC-PAD) através do HPLC Dionex ICS 2500 com uma coluna CarboPac PA1 (4 × 250 mm). A concentração para cada monossacarídeo foi obtida de acordo com a cromatografia das amostras com os padrões glicose, frutose e sacarose da Sigma®. Todos os procedimentos para extração e análise de carboidratos por HPEAC-PAD estão pormenorizadamente descritos em American Society for Testing and Materials (2001).

**Análise estatística** - Para todos os dados foram realizadas análises de variância ANOVA a 5% de significância e o teste de Tukey utilizando o programa ASSISTAT versão 7.5 beta (Silva, 2009) após ter constatado a normalidade dos valores. Para os parâmetros da fluorescência, a média dos tratamentos foi dividida pela média do controle e sobre os valores

obtidos foi calculado o logaritmo de base 10 ( $\log_{10}$ ) obtendo, dessa forma, valores relativos ao controle.

## Resultados

O N, P e K aplicados isoladamente e nas formas combinadas NPK refletiram na maior concentração foliar desses elementos em relação ao controle (tabela 1). Em *C. echinata* a proporção da concentração de nutrientes seguiu a ordem decrescente  $N > P > K$ . Diferente do N e K, cujas concentrações foliares foram similares e independentes da adubação ser isolada ou combinada, a concentração de P foliar foi menor na

Tabela 1. Concentrações de nutrientes nos foliólulos de plantas de *Caesalpinia echinata* tratadas com diferentes adubos aos 450 dias após o início do experimento. Médias com mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% ( $n = 8$ ).

Table 1. Concentrations of nutrients in secondary leaflets of *Caesalpinia echinata* plants treated with different fertilizers at 450 days after the start of the experiment. Means with same letter within each column do not show significant differences by Tukey test at 5% ( $n = 8$ ).

Tratamentos	N	P	K
	dag/kg		
Controle	1,3 b	0,1 c	0,8 b
N	3,1 a	0,1 c	0,9 b
P	1,4 b	0,5 a	1,0 b
K	1,5 b	0,1 c	1,5 a
NPK (04:14:08)	3,6 a	0,3 ab	1,4 a
NPK (10:10:10)	4,0 a	0,2 bc	1,6 a

Tabela 2. Concentrações de clorofila *a* (Clor *a*), clorofila *b* (Clor *b*), clorofila total (Clor<sub>total</sub>), carotenóides (Carot), razão clorofila *a*: clorofila *b* (Clor *a*:*b*) e razão clorofila total e carotenóide (Clor<sub>total</sub>:Carot) em plantas de *Caesalpinia echinata* tratadas com diferentes adubos. Médias com mesma letra não mostram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% aos 450 dias após o início do experimento ( $n = 8$ ).

Table 2. Concentrations of chlorophyll *a* (Chl *a*), chlorophyll *b* (Chl *b*), total chlorophyll (Chl<sub>total</sub>), carotenoids (Carot), chlorophyll *a*: chlorophyll *b* ratio (Chl *a*:*b*), and total chlorophyll and carotenoid ratio (Chl<sub>total</sub>:Carot) in *Caesalpinia echinata* plants treated with different fertilizers. Means with same letter within each column do not show significant differences by Tukey test at 5% at 450 days after the beginning of the experiment ( $n = 8$ ).

Tratamentos	Clor <i>a</i>	Clor <i>b</i>	Clor <sub>total</sub>	Clor <i>a</i> : <i>b</i>	Carot	Clor <sub>total</sub> : Carot
	mg gMF <sup>-1</sup>					
Controle	1,2 bc	1,1 b	1,5 c	1,1 a	0,7 b	2,1 c
N	1,8 ab	1,8 a	3,1 b	1,0 a	1,1 a	2,8 a
P	1,0 c	1,0 b	1,7 c	1,0 a	0,7 b	2,4 bc
K	1,5 bc	1,5 ab	2,9 bc	1,0 a	0,9 ab	3,2 bc
NPK (04:14:08)	2,3 a	2,0 a	3,8 a	1,1 a	1,3 a	3,0 a
NPK (10:10:10)	2,0 a	1,8 a	3,4 ab	1,1 a	1,1 a	3,1 a

forma NPK 10:10:10 em relação à adubação à base de P (fosfatada).

As plantas de *C. echinata* submetidas ao N aplicado isoladamente e nas formas combinadas de NPK apresentaram maiores concentrações de Clor *a*, Clor *b*, Carot e Clor<sub>total</sub> (tabela 2). Esses tratamentos proporcionaram, também, maiores razões de Chl<sub>total</sub>:Carot. A razão Clor *a*:*b* não foi influenciada pela adição dos nutrientes.

Diferenças também ocorreram nos parâmetros da fluorescência da Clor *a* (figura 1). De maneira geral, o N e P inibiram  $F_v/F_m$  de *C. echinata* enquanto nenhuma diferença ocorreu na adubação fosfatada e nas formas combinadas de NPK em relação ao controle. Os valores de  $F_v$ ,  $F_m$  e  $RC/CS_0$  foram menores na adubação fosfatada e maiores nas adubações nitrogenadas e nas duas formas combinadas de NPK em relação ao controle. Foi observado menor valor de  $PI_{total}$  de *C. echinata* na adubação fosfatada seguido de melhores resultados na adubação nitrogenada e nas formas combinadas de NPK. Contudo, essa diferença não foi significativa. Os parâmetros  $F_v/F_0$ ,  $RC/ABS$  e  $ET_0/TR_0$ , que são parâmetros relacionados ao cálculo do  $PI_{total}$ , também não apresentaram diferença significativa (tabela 3).

As concentrações dos fotoassimilados caulinares só diferiram quanto à sacarose da casca que apresentou maiores concentrações na adubação fosfatada seguida de NPK 04:14:08 (tabela 4). Independente do compartimento caulinar (xilema secundário e a casca), a proporção de concentração dos açúcares desse órgão drenou seguiu a ordem decrescente sacarose > glicose > frutose sendo que maior

concentração de sacarose ocorreu na casca chegando a representar 6 % de sua massa seca.

## Discussão

O maior acúmulo de nutrientes foliares nas plantas de *C. echinata* tratadas com fertilizantes confirma observações recentes de que arbóreas tropicais respondem à adição de N, P e K no solo (Santiago *et al.* 2011). A maior proporção do N foliar em plantas de *C. echinata* tratadas com fertilizantes à base de N (fertilização nitrogenada) também foi observada em algumas arbóreas tropicais da sucessão tardia da flora brasileira como plantas jovens de *Swietenia macrophylla* adubadas com NPK (Tucci *et al.* 2007). No entanto, as espécies pioneiras *Peltaphon dubin* denominada Angico-amarelo (Venturim *et al.* 1999) e *Toone cilata*, também conhecida como Cedro australiano (Moretti *et al.* 2011) mostraram maior exigência ao P. Esses resultados apóiam o conceito de que as pioneiras são mais exigentes ao P e K do que as não pioneiras (Duboc, 2005). Nesse sentido, a menor exigência *C. echinata* por esses dois elementos sustenta sua posição como intermediária da sucessão florestal (Mengarda *et al.* 2009). A menor concentração

Tabela 3. Média dos parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, coeficiente de variação (CV) e teste de significância  $P < 0,05$  (*F*) aos 450 dias após o início do experimento ( $n = 8$ ).

Table 3. Average chlorophyll fluorescence parameters, coefficient of variation (CV) and test of significance of  $P < 0.05$  (*F*) to 450 days after beginning the experiment ( $n = 8$ ).

Parâmetros da fluorescência	Média	CV	<i>F</i>
PI <sub>total</sub>	281	31%	ns
F <sub>v</sub> /F <sub>0</sub>	396	18%	ns
RC/ABS	0,39	21%	ns
ET <sub>0</sub> /TR <sub>0</sub>	0,46	17%	ns
ABS/CS	2,88	15%	ns
TR <sub>0</sub> /CS	1,12	10%	ns
ET <sub>0</sub> /CS	1048	6%	*
DI <sub>0</sub> /CS	766	30%	ns
RC/CS <sub>0</sub>	346	10%	*
F <sub>0</sub>	1048	15%	ns
F <sub>M</sub>	3988	1%	*
F <sub>v</sub>	2941	6%	*
F <sub>v</sub> /F <sub>M</sub>	0,74	5%	ns

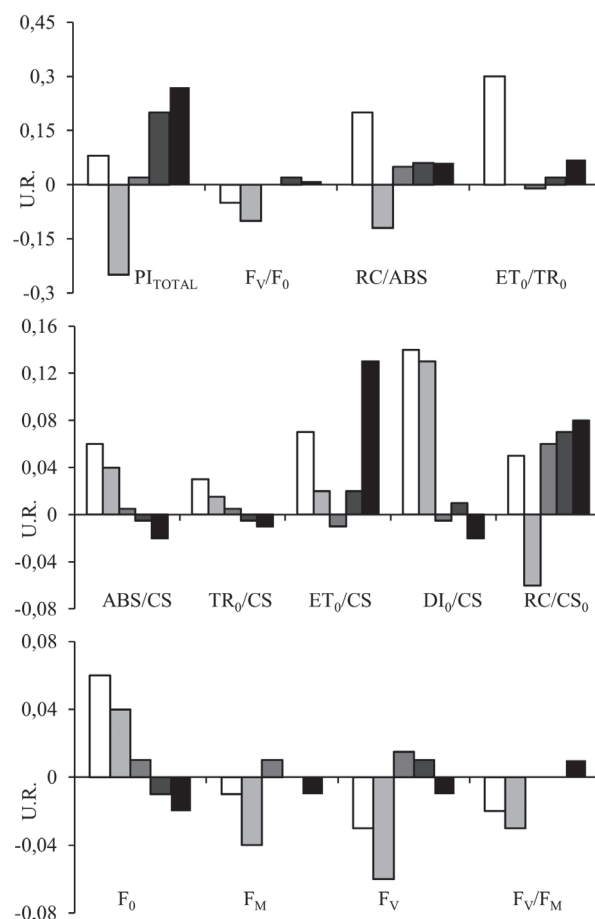


Figura 1. Parâmetros da fluorescência da clorofila *a* em relação ao controle aos 450 dias após o início do experimento. Fluorescência inicial ( $F_0$ ), fluorescência máxima ( $F_M$ ), fluorescência variável ( $F_v$ ), rendimento quântico máximo potencial do FSII ( $F_v/F_0$ ), absorvância de fótons (ABS/CS), transporte de elétrons ( $ET_0/CS$ ), fluxo de energia capturada ( $TR_0/CS$ ), dissipação de energia ( $DI_0/CS$ ), densidade de centros de reação por seção transversal ( $RC/CS_0$ ), índice de desempenho ( $PI_{total}$ ), rendimento quântico máximo efetivo do FSII ( $F_v/F_0$ ), centros de reação ativos por quantidade de luz absorvida ( $RC/ABS$ ) e probabilidade de um elétron da  $Q_A$  reduzida mover para a cadeia transportadora de elétrons ( $ET_0/TR_0$ ) segundo Chen *et al.* (2011) e Yusuf *et al.* (2010). U.R. = Unidade Relativa. □ N, ■ P, ■ NPK 04:14:08, ■ NPK 10:10:10.

Figure 1. Parameters of chlorophyll fluorescence as compared to the control at 450 days after the beginning of experiment. Initial fluorescence ( $F_0$ ), maximum fluorescence ( $F_M$ ), variable fluorescence ( $F_v$ ), maximum quantum yield of primary photochemical of PSII ( $F_v/F_0$ ), photon absorbance (ABS/CS), electron transport ( $ET_0/CS$ ), flow of the captured energy ( $TR_0/CS$ ), energy dissipation ( $DI_0/CS$ ), density of reaction centers per cross section ( $RC/CS_0$ ), the performance index ( $PI_{total}$ ), effective maximum quantum yield of PSII ( $F_v/F_0$ ), active reaction centers per amount of light absorbed ( $RC/ABS$ ), and probability of an electron from reduced  $Q_A$  to move the electron transport chain ( $ET_0/TR_0$ ) according to Chen *et al.* (2011) and Yusuf *et al.* (2010). U.R. = Relative unit. □ N, ■ P, ■ NPK 04:14:08, ■ NPK 10:10:10.

Tabela 4. Concentração de carboidratos solúveis no xilema secundário e na casca do caule de plantas de *Caesalpinia echinata* tratadas com diferentes adubos aos 450 dias após o início do experimento. Valores em mg g<sup>-1</sup> MS. Médias com mesma letra não mostram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% (n = 8).

Table 4. Concentration of soluble carbohydrates in the secondary xylem and stem bark of *Caesalpinia echinata* plants at 450 days after the start of the experiment. Values in mg g<sup>-1</sup> DM. Means with same letter within each column do not show significant differences by Tukey test at 5% at 450 days after the beginning of the experiment (n = 4).

Tratamentos	casca			xilema secundário		
	glicose	frutose	sacarose	glicose	frutose	sacarose
	mg g <sup>-1</sup> MS					
Controle	0,5 a	0,2 a	44 c	0,8 a	0,3 a	16 a
N	0,2 a	0,1 a	39 c	0,3 a	0,4 a	11 a
P	0,4 a	0,1 a	62 a	0,2 a	0,1 b	12 a
K	0,3 a	0,1 a	39 c	0,2 a	0,1 a	0,7 a
NPK (04:14:08)	0,7 a	0,2 a	52 b	0,2 a	0,1 a	12 a
NPK (10:10:10)	0,5 a	0,1 a	35 c	0,2 a	0,1 a	12 a

de P foliar na forma combinada NPK 10:10:10 em relação à adubação à base de P (fosfatada) nas plantas de *C. echinata* também foi constatado em algumas arbóreas tropicais em que a concentração foliar de P foi menor quando combinado com N (Lawrence, 2001) sugerindo efeito antagônico do N com o P (Marschner 2012).

Mais uma vez, *C. echinata* mostrou ser mais responsiva à adubação nitrogenada e às formas combinadas de NPK com efeito na concentração dos pigmentos. Resultados semelhantes foram observados em espécies de *Bignoniaceae* (Kitajima & Hogan 2003) em que a concentração de Clor<sub>total</sub> mostrou correlação positiva com o teor N foliar nas plantas tratadas com adubação nitrogenada (dados não apresentados). Em *C. echinata*, o teor de N foliar mostrou, também, correlação significativa com a Clor<sub>total</sub> ( $R^2 = 0,724$ ,  $P < 0,05$ ) enquanto o P não mostrou nenhuma correlação ( $R^2 = 0,032$ ) e o K mostrou menor correlação ( $R^2 = 0,499$ ,  $P < 0,05$ ) em relação ao N (dados das correlações não apresentados). Essas correlações podem ser interpretadas como reflexo da proporção da concentração dos nutrientes foliares em que o N foi o elemento mais representativo seguido pelo P com valores intermediários e pelo K com os mais baixos valores. A falta de influência das fertilizações na razão da Clor *a:b* não era esperada uma vez que é bem conhecido que essa proporção aumenta em resposta à maior disponibilidade de nutrientes, especialmente o N (Kitajima & Hogan 2003). Por outro lado, menor razão Clor *a:b* foi observado em *Fagus sylvatica* (espécie de região temperada) sob

maior fertilização (Minotta & Pinzauti 1996). Essa falta de padrão na razão de Clor *a:b* em relação à maior oferta de nutrientes tem sido atribuído à elevada variabilidade genética interespecífica das arbóreas tropicais (Kitajima & Hogan 2003).

A falta de diferença de  $F_v/F_M$  na maior oferta de nutrientes (formas combinadas de NPK) em relação ao controle, também, foi constatada em plantas jovens da arbórea tropical *Tabebuia rosea* submetidas à maior fertilização (Kitajima & Hogan, 2003).

Os resultados de  $RC/CS_0$  refletiram no  $PI_{ABS}$  considerado um indicador da vitalidade da planta permitindo uma análise mais ampla do fotossistema II, em comparação ao  $F_v/F_M$ , relacionando a eficiência de absorção de fótons, a captura de energia de excitação, a densidade de centros de reação ativos e a probabilidade da energia de excitação mover um elétron para além de  $Q_a$  (Gonçalves *et al.* 2001). Segundo Hermans *et al.* (2003), o  $PI_{total}$  é importante parâmetro para distinguir o comportamento fotossintético de árvores. Nesse sentido, foi observado menor valor de  $PI_{total}$  de *C. echinata* na adubação fosfatada seguido dos melhores resultados na adubação nitrogenada e nas formas combinadas de NPK, porém, sem diferença significativa. A falta de diferença significativa nos parâmetros da fluorescência da Clor *a* nas plantas de *C. echinata* submetidas à maior disponibilidade de nutrientes também foi constatado por Coste *et al.* (2005) em 14 espécies de arbóreas tropicais. Esses autores demonstram fraca correlação entre a concentração do N foliar com a capacidade fotossintética e concluíram que variações na fotossíntese estão mais relacionadas

com o N alocado para esta função do que meramente com sua concentração foliar.

Considerando que o K tem grande participação na fotossíntese e transporte de fotoassimilados no floema (Santiago *et al.* 2011; Wright *et al.* 2011) esperava-se encontrar maior concentração de sacarose na casca das plantas de *C. echinata* adubadas à base de K (fertilização potássica). Todavia, é importante salientar que o transporte ativo da sacarose no floema requer ATP dependente do P em sua estrutura (Marschner 2012). Dessa forma, mesmo que a adubação fosfatada tenha afetado o  $PI_{total}$  de *C. echinata* em relação ao controle, esse tratamento proporcionou maior concentração da sacarose na casca do caule de *C. echinata*, sugerindo maior demanda de substrato para a síntese de componentes estruturais da madeira (celulose e as hemiceluloses) conforme postulado por Cuzzuol *et al.* (2013). Isso poderia resultar em caules mais resistentes e maior sobrevivência das plantas em condições de campo primordial para o reflorestamento com arbóreas nativas tropicais.

Tais resultados sugerem o envolvimento de outros fatores como variações da temperatura e da umidade ambiental que têm profunda influência nas atividades fisiológicas (Lambers *et al.* 2008). A maior proporção de concentração de sacarose no xilema secundário e na casca de *C. echinata* confirma informação anterior de que a sacarose é o carboidrato solúvel mais abundante no caule de *C. echinata* (Geßler *et al.* 2005).

A falta de diferença significativa de  $F_v/F_M$  e  $PI_{total}$  entre os tratamentos demonstra que a maior concentração de sacarose na casca de *C. echinata* na adubação fosfatada é mais dependente do gasto de ATP do que da atividade fotoquímica. De certa forma, essa hipótese é sustentada pela relação da concentração de P foliar com a sacarose da casca ( $R^2 = 0,765$ ,  $P < 0,05$ ). Quanto ao N e K foliar não se verificou correlação dos teores desses elementos com a concentração da sacarose. A concentração da sacarose na casca das plantas tratadas NPK 04:14:08 inferior à fertilização fosfatada pode ser atribuído à ação antagônica do N ao P (Marschner 2012) na forma combinada como pode ser constatado pela menor concentração foliar do P em NPK 04:14:08 em relação à fertilização fosfatada nas plantas de *C. echinata*.

### Conclusão

Confirmamos a hipótese inicial de que *C. echinata* é mais responsiva ao N indicado pelas maiores concentrações de N foliar que, por sua vez, mostrou estreita correlação com a concentração de pigmentos fotossintetizantes. Por outro lado, rejeitamos a

hipótese de que o N pudesse melhorar a eficiência fotoquímica baseado na falta de diferença significativa de  $F_v/F_M$  e  $PI_{total}$  entre os tratamentos.

### Agradecimentos

O primeiro autor agradece a CAPES pela concessão de bolsa de estudos; a FAPES Processo-39044823/2007 pelo suporte financeiro; ao Eng. Florestal Dr. José Manoel Lúcio Gomes do DCBIO/CCHN/UFES pela orientação no delineamento experimental.

### Literatura citada

- American society for testing and materials.** 2001. E 1758-01: standard practice for preparation of biomass for compositional analysis. [S.I.].
- Anttonen, S., Manninen, A.-M., Saranpää, P., Kainulainen, P., Linder, S. & Vapaavuori, E.** 2002. Effects of long-term nutrient optimization on stem wood chemistry in *Picea abies*. *Trees* 16: 386-394.
- Baker, N.R.** 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology* 59: 89-113.
- Bataglia, O.C., Furlani, A.M.C., Teixeira, J.P.F., Furlani, P.R. & Gallo, J.R.** 1983. Métodos de análise química de plantas. *Boletim Técnico* 78, Instituto Agrônomo de Campinas.
- Chen, S., Zhou, F., Yin, C., Strasser, R.J., Yang, C. & Qiang, S.** 2011. Application of fast chlorophyll a fluorescence kinetics to probe action target of 3-acetyl-5-isopropyltetramic acid. *Environmental and Experimental Botany* 71: 269-279.
- Coste, S., Roggy, J., Imbert, P., Born, C., Bonal, D. & Dreyer, E.** 2005. Leaf photosynthetic traits of 14 tropical rain forest species in relation to leaf nitrogen concentration and shade tolerance. *Tree Physiology* 25:1127-1137.
- Cuzzuol, G.R.F., Milanez, C.R.D., Gomes, J.M.L., Labate, C.A., Canal, E.C.** 2013. Relationship between N, P, and K and the quality and stem structural characteristics of *Caesalpinia echinata* Lam. plants. *Trees* 27: 1477-1484.
- Cruz, C.A.F., Paiva, H.N. & Guerrero, C.R.A.** 2006. Efeito da adubação nitrogenada na produção de mudas de sete-casas (*Samanea inopinata* (Harms) Ducke). *Revista Árvore* 30: 537-546.
- Duboc, E.** 2005. Desenvolvimento inicial e nutrição de espécies arbóreas nativas sob fertilização, em plantios de recuperação de áreas de cerrado degradado. Tese de Doutorado, UNESP, Botucatu.
- Geßler, A., Duarte, H.M., Franco, A.C., Lüttge, U., Mattos, E.A., Nahm, M., Rodrigues, P.J.E.P., Scarano, F.R. & Rennenberg, H.** 2005. Ecophysiology of selected tree species in different plant communities at the periphery of the Atlantic Forest of SE - Brazil III. Three legume in a semi-deciduous dry forest. *Trees* 19: 523-530.

- Gonçalves, J.F.C., Marengo, R.A., Vieira, G.** 2001. Concentration of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of mahogany and tonka bean under two light environments. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 13:149-157.
- Hermans, C., Smeyers, M., Rodrigez, R.M., Eyletters, M., Strasser, R.J. & Delhay, J.** 2003. Quality assessment of urban trees: A comparative study of physiological characterization, airborne imaging and on site fluorescence monitoring by the OJIP-test. *Journal of Plant Physiology* 160: 8-90.
- Iivonen, S., Rikala, R. & Vapaavuori, F.** 2001. Seasonal root growth of Scots pine seedlings in relation to shoot phenology, carbohydrate status and nutrient supply. *Canadian Journal of Forest Research* 31: 1569-1578.
- Kaakinen, S., Jolkkonen, A., Iivonen, S. & Vapaavuori, E.** 2004. Growth, allocation and tissue chemistry of *Picea abies* seedlings affected by nutrient supply during the second growing season. *Tree Physiology* 24: 707-719.
- Kitajima, K. & Hogan, K.P.** 2003. Increases of chlorophyll *a/b* ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light. *Plant, Cell and Environment* 26: 857-865.
- Kozłowski, T.T.** 1992. Carbohydrate sources and sinks in woos plants. *The Botanical Review* 58: 107-222.
- Laurence, D.** 2001. Nitrogen and phosphorus enhance growth and luxury consumption of four secondary forest tree species in Borneo. *Journal of Tropical Ecology* 17: 859-869.
- Lambers H., Raven, J.A., Shaver, G.R., Smith, S.E.** 2008. Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. *Trends in Ecology & Evolution* 23: 95-103.
- Lichtenthaler, H.K. & Welburn, A.R.** 1983. Determination of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11:591-592.
- Marques, V.B., Paiva, H.N., Gomes, J.M., Neves, J.C.L. & Bernardino, D.C.S.** 2006. Efeito de fontes e doses de nitrogênio sobre o crescimento inicial e qualidade de mudas de jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. Ex Benth.). *Revista Árvore* 30: 725-735.
- Marschner, P.** 2012. Mineral nutrition of higher plants. 3 ed., Academic Press, Orlando, pp. 649.
- Maxuell, K. & Johnson, G. N.** 2000. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51:659-668.
- Mengarda, L.H.G., Souza, R.L.F., Campostrini, E., Reis, F.O., Vendrame, W.A., Cuzzuol, G.R.F.** 2009. Light as an indicator of ecological succession in brazilwood (*Caesalpinia echinata* Lam.). *Brazilian Journal Plant of Physiology* 21: 55-64.
- Mello, J.I.O. & Barbedo, C.J.** 2007. Temperatura, luz e substrato para a germinação de sementes de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae - Caesalpinioideae). *Revista Árvore* 31: 645-655.
- Minotta, G. & Pinzauti, S.** 1996. Effects of light and soil fertility on growth, leaf chlorophyll content and nutrient use efficiency of beech (*Fagus sylvatica* L.) seedlings. *Forest Ecology and Management* 86: 61-71.
- Moretti, B.S., Furtini-Neto, A.E., Pinto, S.I.C., Furtini, I.V. & Magalhães, C.A.S.** 2011. Crescimento e nutrição mineral de mudas de cedro australiano (*Toona cilata*) sob omissão de nutrientes. *Cerne*, v. 17, n. 4.
- Plomion, C., Leprovost, G. & Stokes, A.** 2001. Wood formation in trees 127: 1513-1523.
- Santiago, L.S., Kaspari, M., Hedin. I.O., Harms, K.E., Garcia, M.N. & Corre, M.D.** 2011. Potassium, phosphorus or nitrogen limit root allocation, tree growth and litter production in a lowland tropical forest. *Ecology* 92: 1616-1625.
- Schimleck, L.R., Espey, C., Christina, R.M., Evans, R., Taylor, A. & Muniz, G.** 2009. Characterization of the wood quality of pernambuco (*Caesalpinia echinata* Lam) by measurements of density, extractives content, microfibril angle, stiffness, color, and NIR spectroscopy. *Holzforschung* 63: 457-463.
- Silva, F.A.S.** 2009. ASSISTAT.exe: assistência estatística. v. 7.5 beta. Campina Grande: UFCG.
- Strasser, R.J., Srivastava, A. & Tsimilli-Michael, M.** 2004. Analysis of the chlorophyll *a* fluorescence transient. In: G.C. Papageorgiou & R. Govindjee (org.). Fluorescence transient chlorophyll *a* fluorescence: a signature of photosynthesis. Spring, Netherlands 14: 321-362.
- Tsimilli-Michael, M & Strasser, R.J.** 2008. In vivo assessment of plants vitality: applications in detecting and evaluating the impact of Mycorrhization on host plants. In: A. Varma (org.). Mycorrhiza. Uttar Pradesh, India, pp. 679-703.
- Tucci, C.A.F., Souza, P.A, Venturim, N. & Barros, J.G.** 2007. Calagem e adubação para a produção de mudas de mogno (*Swietenia macrophylla* King). *Cerne* 13: 299-307.
- Venturim, N., Duboc, E., Vale, F.R. & Davie, A.C.** 1999. Adubação mineral do Angico-amarelo (*Peltophorum dubium* Spreng.) Taub.). *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 34: 441-448.
- Wright, S.J., Yavitt, J.B., Wurzburger, N., Turner, B.I., Tanner, E.V.J., Sayer, E.J., Santiago, L.S., Kaspari, M., Hedin. I.O., Harms, K.E., Garcia, M.N. & Corre, M.D.** 2011. Potassium, phosphorus or nitrogen limit root allocation, tree growth and litter production in a lowland tropical forest. *Ecology* 92: 1616-1625.
- Wyka, T., Robakowski, P. & Zytowski, R.** 2007. Acclimation of leaves to contrasting irradiance in juvenile trees differing in shade tolerance. *Tree Physiology* 27: 1293-1306.
- Yusuf, M.A., Kumar, D., Rajwanshi, R., Strasser, R.J., Tsimilli-Michael, M., Govindjee & Sarin, N.B.** 2010. Overexpression of  $\gamma$ -tocopherol methyl transferase gene in *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: physiological and chlorophyll *a* fluorescence measurements. *Biochimica et Biophysica Acta* 1797: 1428-1438.
- Zobel, B.J. & Spague, J.R.** 1998. Juvenile wood in forest trees. Springer-Verlag, Berlin.