

PIGMENTOS CLOROPLASTÍDICOS E DANO CÉLULAR EM ABOBRINHA ITALIANA SOB DIFERENTES FONTES DE NITROGÊNIO E SALINIDADE

Layla Bruna Lopes Reges¹, Miguel Ferreira Neto¹, Cleyton dos Santos Fernandes¹, Simara Silva Melo¹, Francisco Vanies da Silva Sá¹

Universidade Federal Rural do Semi-Árido, E-mail: laylabruna69@gmail.com, miguel@ufersa.edu.br, cleyton1959@hotmail.com, sylvaamello@gmail.com, vanies_agronomia@hotmail.com

Resumo: O estresse salino ocasiona limitações no crescimento, fisiologia e produção das culturas agrícolas. Essas reduções ocorrem devido aos efeitos osmóticos e iônicos dos sais sobre as plantas, sendo estresse na restrição na absorção de água devido a redução do potencial osmótico da solução do solo, que causa estresse hídrico, ou pela absorção excessiva de íons específicos, que exercem efeitos citotóxicos nas plantas e restringem a absorção de nutrientes essenciais. Diante disto, pesquisas vêm sendo realizadas para mitigar os efeitos do estresse salino sobre as plantas. Dentre essas, o uso de adubos nitrogenados tem mostrado efeito positivo, haja vista que esse nutriente é o mais requerido pelas culturas, e é componente estrutural de compostos relacionado ao ajuste osmótico. Com isso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os pigmentos cloroplastídicos e danos celulares em folhas de abobrinha italiana cv. Caserta submetidas ao estresse salino e adubação com fontes de nitrogênio nítrica e amoniacal em cultivo hidropônico. Por conseguinte, o experimento foi conduzido em estufa, com cobertura de polietileno, pertencente ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), em Mossoró-RN, sob as coordenadas geográficas 5°11' S e 37°20' W, e 18 m de altitude. O experimento foi instalado em um delineamento de blocos casualizados, em esquema fatorial 5 x 2, sendo cinco concentrações salinas da água para preparo da solução nutritiva (condutividade elétrica de 0,5; 2,0; 3,5; 5,0 e 6,5 Ds.m⁻¹) e duas fontes de nitrogênio (Nítrica e Amoniacal), com quatro repetições e três plantas por repetição. As plantas foram cultivadas em vasos plásticos com capacidade para 6 litros, preenchidos com fibra de coco e foram conduzidas em sistema hidropônico, com todos os nutrientes necessários ao desenvolvimento da cultura, variando apenas as fontes de nitrogênio. Vale salientar que as soluções da fonte amoniacal receberam inibidor de nitrificação, garantindo absorção do nitrogênio exclusivamente na forma amoniacal. As águas salinas foram produzidas pela adição de sais de cloreto de sódio, cloreto de cálcio e cloreto de magnésio na proporção 7:2:1. Para a aplicação da solução de irrigação foram utilizados gotejadores autocompensantes de vazão de 1,4 L.h⁻¹. Os pigmentos cloroplastídicos foram avaliados na fase de florescimento. Para isso amostras de folhas foram colhidas, e nelas foram extraídos e determinados os teores de clorofila a, clorofila b e carotenoides, por meio de espectrometria. Nas mesmas folhas foi determinado o extravasamento de eletrólitos, expressos em porcentagem de dano celular. Apenas o teor de clorofila b foi influenciado pelas fontes de nitrogênio e as plantas nutridas com nitrogênio amoniacal apresentaram maiores valores para extravasamento de eletrólitos. Dessa forma, conclui-se que a fonte de nitrogênio amoniacal promove incremento no teor de clorofila b e a adubação exclusivamente com nitrogênio amoniacal provoca danos celulares mais severos nas plantas de abobrinha submetidas ao estresse salino.

Palavras-chave: *Cucurbita pepo*, Estresse salino, Irrigação, Fisiologia Vegetal.

(83) 3322.3222

contato@conadis.com.br

www.conadis.com.br

INTRODUÇÃO

A abobrinha (*Cucurbita pepo* L.) é pertencente à família das cucurbitáceas, e sua origem é a região central do México. No Brasil é conhecida popularmente como 'abóbora de moita', 'abobrinha italiana' e 'abobrinha de tronco' (Filgueira, 2012) e é considerada uma das dez hortaliças de maior valor econômico no país, com importância econômica elevada, principalmente no centro e sul do país. Entretanto, o seu cultivo da abobrinha está em plena expansão na região nordeste, com ênfase na região semiárida (Carpes et al., 2008; Couto et al., 2009; Filgueira, 2012).

Os principais efeitos do estresse salino são causados pela restrição osmótica, ocasionada pelo excesso de sais na rizosfera limitando a extração de água pelas raízes, e conseqüentemente, reduzindo o crescimento das plantas. Dentre os efeitos secundários estão o desequilíbrio iônico ocasionado pela absorção excessiva de íons específicos (Na^+ e Cl^-), promove a inativação de enzimas, a competição iônica entre íons específicos e nutrientes, contribuído para toxicidade iônica e estresse oxidativo a nível celular (Esteves & Suzuki, 2008; Munns & Tester, 2008; Nazar et al., 2011; Khan et al., 2012). Conforme a intensidade e duração do estresse salino, também provoca a indução da produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROS) que desencadeiam a peroxidação lipídica, danos no DNA, inibição da fotossíntese e perturbação no estado dos nutrientes minerais, resultando na redução do crescimento e produtividade das culturas (Nazar et al. 2011; Turan & Tripathy, 2012; Acosta-Motos et al., 2017; Huang, 2018).

O manejo adequado do nitrogênio em ambientes salinos é uma estratégia promissora de convívio com salinidade, e a interação salinidade e nitrogênio vêm proporcionando melhorias no crescimento, fisiologia e produção das plantas submetidas ao estresse salino (Santos et al., 2016; Sá et al., 2018). No metabolismo das plantas, este macronutriente desempenha funções estruturais, como componente de aminoácidos, proteínas, enzimas, RNA, DNA, ATP, clorofila, dentre outras moléculas, e está diretamente relacionado ao crescimento das plantas (Chaves et al., 2011), além de atuar no ajuste osmótico e na minimização dos efeitos das espécies reativas de oxigênio (Ashraf & Harris, 2004).

Com base no exposto, objetivou-se com o trabalho avaliar os pigmentos cloroplastídicos e danos celulares em folhas de abobrinha italiana cv. Caserta submetidas ao estresse salino e adubação com fontes de nitrogênio nítrica e amoniacal em cultivo hidropônico.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação pertencente ao Centro de Ciências Agrárias, localizada no campus Leste da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), em Mossoró-RN, sob as coordenadas geográficas 5°11' S e 37°20' W, e 18 m de altitude.

Adotou-se delineamento experimental de blocos casualizados, arranjados em esquema fatorial 5×2 , com quatro repetições, totalizando 40 unidades experimentais. Cada unidade experimental continha 3 plantas. Os tratamentos consistiram de cinco níveis salinos (S1 = 0,5; S2 = 2,0; S3 = 3,5; S4 = 5,0 e S5 = 6,5 dS.m⁻¹) e duas fontes de nitrogênio (Nitrato - NO₃⁻ e Amônio - NH₄⁺).

As plantas foram cultivadas em vasos plásticos de 8 dm³, preenchidos com substrato de fibra de coco. Na parte inferior dos vasos colocou-se uma camada de 2 cm de brita + geotêxtil para evitar que houvesse a perda de substrato. Inicialmente, o substrato foi irrigado com água de abastecimento de modo a deixá-lo próximo à capacidade máxima de retenção de água (capacidade de campo), para em seguida se proceder à sementeira, a uma profundidade de 3 cm, onde foi colocado quatro sementes por vaso. Os vasos foram colocados sobre um suporte, a fim de evitar o contato direto com o piso da casa de vegetação, bem como para facilitar a drenagem.

Após o estabelecimento das plantas, iniciou-se a aplicação dos tratamentos, que consistiram da fertirrigação com solução nutritiva formulada com base em Furlani et al. (1999), modificada para conter nitrogênio somente sob a forma de NO₃⁻ e nitrogênio somente sob a forma de NH₄⁺, acrescidas de sais até atingir as concentrações de sais estudadas (Tabela 1). As águas salinas foram produzidas pela adição de sais de cloreto de sódio, cloreto de cálcio e cloreto de magnésio na proporção 7:2:1. Para evitar a nitrificação do NH₄⁺, colocou-se inibidor de nitrificação nesta solução, garantindo assim a absorção do nitrogênio exclusivamente na forma amoniacal. No preparo das soluções, utilizou-se água proveniente do sistema de abastecimento do Campus Leste da UFERSA (Tabela 2).

Tabela 1. Nutrientes utilizados na formulação da solução nutritiva utilizada no experimento.

Solução estoque	Concentração (g.L ⁻¹)	100% NO ₃ ⁻	100% NH ₄ ⁺
KNO ₃ a 1 M	101,10	6 mL.L ⁻¹	-
Ca(NO ₃) ₂ a 1M	164,09	5 mL.L ⁻¹	-
MgSO ₄ a 1M	120,37	2,5 mL.L ⁻¹	2,5 mL.L ⁻¹

KH ₂ PO ₄ a 1M	136,09	1,5 mL.L ⁻¹	-
Fe-EDTA*	-	1 mL.L ⁻¹	1 mL.L ⁻¹
Micronutrientes**	-	1 mL.L ⁻¹	1 mL.L ⁻¹
(NH ₄) ₂ SO ₄ a 1M	132,14	-	6 mL.L ⁻¹
NH ₄ HPO ₄	115,06	-	1,5 mL.L ⁻¹
NH ₄ Cl a 1M	53,49	-	2,5 mL.L ⁻¹
KCl a 1M	74,55	-	1,5 mL.L ⁻¹
K ₂ SO ₄ a 0,5 M	87,13	-	6 mL.L ⁻¹
CaCl ₂ a 1 M	110,98	-	5 mL.L ⁻¹

Adaptada de Furlani et al. (2009)

*(EDTA dissódico + FeSO₄.7H₂O); **((H₃BO₃ + MnSO₄ + ZnSO₄ + CuSO₄ + H₂MO₄))

Tabela 2. Caracterização físico-química da água de abastecimento utilizada no preparo das soluções nutritivas.

Parâmetros									
pH	CE	K ⁺	Na ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	CO ₃ ²⁻	HCO ₃ ⁻	RAS
H ₂ O	dS.m ⁻¹	mmolc.L ⁻¹							
7,57	0,54	0,31	3,79	1,20	0,83	2,40	0,60	3,20	4,90

pH (H₂O) - Potencial hidrogeniônico em água; CE - Condutividade elétrica; K⁺ - Potássio; Na⁺ - Sódio; Mg²⁺ - Magnésio; Ca²⁺ - Cálcio; Cl⁻ - Cloro; CO₃²⁻ - Carbonato; HCO₃⁻ - Bicarbonato; RAS - Razão de adsorção de sódio

A partir do semeio, irrigou-se as plantas duas vezes ao dia (no início da manhã e no final da tarde), aplicando-se volume de solução necessário para repor as perdas ocorridas por evapotranspiração. A lâmina aplicada em cada irrigação foi calculada pela diferença entre a lâmina aplicada e a lixiviada (lisimetria) em vasos destinados para este fim. Para aplicação da solução nutritiva utilizou-se sistema de irrigação por gotejamento com gotejadores autocompensantes de vazão de 1,4 L.h⁻¹. Quando as plantas atingiram a fase de floração procedeu-se a polinização, realizada de forma manual, sempre nas primeiras horas da manhã.

O grau de integridade das membranas foi estimado pelo extravasamento de eletrólitos (EE) e seus valores expressos em porcentagem. Essa análise foi determinada em amostras de folhas de acordo com metodologia descrita por Singh et al. (2007).

Das mesmas folhas utilizadas para a determinação do extravasamento de eletrólitos foram retirados discos foliares de 0,625 cm de diâmetro para a determinação dos seguintes

pigmentos cloroplastídicos: clorofila a (CLO a), clorofila b (CLO b) e carotenoides (CAROT). A extração dos pigmentos foi realizada em solução de dimetilsulfóxido saturada com CaCO_3 , seguindo metodologia descrita por Wellburn (1994).

As características avaliadas foram analisadas com o auxílio do programa estatístico SISVAR, versão 5.3 (Ferreira, 2014), obtendo-se as variâncias (ANOVA) e verificando-se as significâncias ao nível de 5% e 1% de probabilidade dos tratamentos por meio do teste F. Quando houve significância, procedeu-se à análise de regressão para os níveis salinos e teste de média (Tukey à 5% de probabilidade) para as fontes de nitrogênio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os níveis salinos não influenciaram os pigmentos cloroplastídicos das plantas de abobrinha italiana cv. Caserta e, apenas o teor de clorofila b foi influenciado pelas fontes de nitrogênio. Quanto ao extravasamento de eletrólitos, também se constatou que houve influência apenas das fontes de nitrogênio sob a variável (Tabela 3).

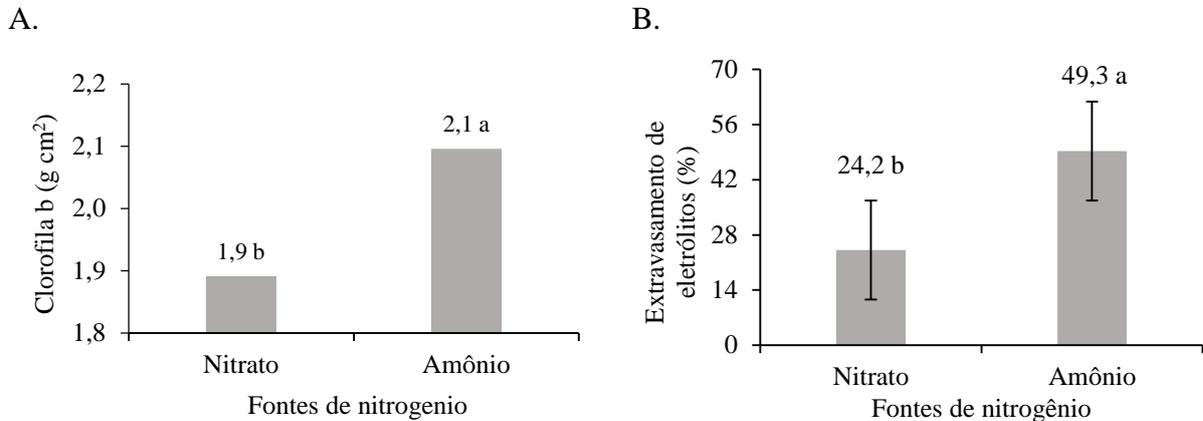
Tabela 3. Resumo da análise de variância para clorofila a (CLO a), clorofila b (CLO b), carotenoides (CAROT) e extravasamento de eletrólitos de plantas de abobrinha italiana cv. Caserta submetidas à irrigação com águas salinas e adubadas com diferentes fontes de nitrogênio.

Fontes de variação	GL	Quadrado médio			
		CLO a	CLO b	CAROT	EE
Bloco	3	0,57 ^{ns}	0,0198 ^{ns}	0,069 ^{ns}	172,55 ^{ns}
Níveis salinos (NS)	4	1,22 ^{ns}	0,1043 ^{ns}	0,034 ^{ns}	97,49 ^{ns}
Fontes de nitrogênio (FN)	1	4,55 ^{ns}	0,4161*	0,197 ^{ns}	6337,81**
NS x FN	4	1,33 ^{ns}	0,0702 ^{ns}	0,043 ^{ns}	43,89
Resíduo	27				
CV (%)		14,44	13,30	16,71	20,01

** , * e ^{ns} = Significativo a 1% ($p < 0,01$), a 5% ($p < 0,05$) e não significativo ($p > 0,05$), respectivamente, de acordo com o teste F; GL = Graus de liberdade; CV = Coeficiente de variação.

A fonte de nitrogênio amoniacal promoveu incremento de 10,5% na concentração de clorofila b nas folhas de abobrinha italiana (Figura 1A). Segundo Mendes et al. (2011) o incremento dos teores de clorofila observados em plantas submetidas a algum tipo de estresse pode ser em consequência do aumento no número de tilacoides ou do aumento no número de

cloroplastos, sugerindo assim a ativação de um mecanismo de proteção ao aparato fotossintético das plantas.



Letras diferentes indicam diferença entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 1. Teor de clorofila b (A) e extravasamento de eletrólitos (B) de plantas de abobrinha italiana cv. Caserta submetidas à irrigação com águas salinas e adubadas com diferentes fontes de nitrogênio.

As plantas de abobrinha italiana adubadas com NH_4^+ apresentaram valores de extravasamento de eletrólitos mais de duas vezes superiores em relação às plantas adubadas com NO_3^- (Figura 1B). Os valores médios observados na presença das duas fontes de nitrogênio foram de 49,3 e 24,2% para NH_4^+ e NO_3^- , respectivamente, indicando assim danos nas membranas muito mais severos nas plantas nutridas com NH_4^+ , o que poderá ter refletido no processo fotossintético, e conseqüentemente, contribuído para o menor crescimento das plantas sob essa condição de adubação.

O decréscimo na estabilidade da membrana reflete a extensão da peroxidação de lipídios causados por espécies reativas de oxigênio (EROS), como o radical superóxido (O_2^-) e outras espécies químicas altamente reativas como o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), o radical hidroxila (OH^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Mendes et al., 2011). Como não houve efeito da salinidade sob o extravasamento de eletrólitos, supõe-se que essa maior degradação observada nas plantas nutridas com NH_4^+ deve ser em consequência de fatores fotoquímicos desfavoráveis sob essa condição de adubação.

Estudos de Aragão et al. (2012) mostraram que doses altas de NO_3^- reduziram os danos nas membranas de plantas de *Jatropha curcas* submetidas ao estresse salino, sugerindo

assim que a fonte de nitrogênio nítrica pode atuar como redutora de danos nas membranas foliares, como aconteceu no presente estudo.

CONCLUSÕES

O nitrogênio fornecido na forma amoniacal promove incremento no teor de clorofila b em plantas de abobrinha submetidas ao estresse salino.

A adubação exclusivamente com fonte de nitrogênio amoniacal provoca danos celulares severos em plantas de abobrinha submetidas ao estresse salino.

LITERATURA CITADA

Acosta-Motos, J. R.; Ortuño, M. F.; Vicente, A. B.; Vivancos, P. D.; Blanco, M. J. S.; Hernandez, J. A. Plant Responses to Salt Stress: Adaptive Mechanisms. *Agronomy*, v.7, p.1-38, 2017.

Aragão, R. M.; Silva, E. N.; Vieira, C. F.; Silveira, J. A. C. High supply of NO_3^- mitigates salinity effects through an enhancement in the efficiency of photosystem II and CO_2 assimilation in *Jatropha curcas* plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, v.34, p.2135-2143, 2012.

Ashraf, M.; Harris, P. J. C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, v.166, p.3-16. 2004.

Carpes, R. H.; Lúcio, A. D.; Storck, L.; Lopes, S. J.; Zanardo, B.; Paludo, A. L. Ausência de frutos colhidos e suas interferências na variabilidade da fitomassa de frutos de abobrinha italiana cultivada em diferentes sistemas de irrigação. *Revista Ceres*, v.55, p.590-595, 2008.

Couto, M. R. M.; Lúcio, A. D. C.; Lopes, S. J.; Carpes, R. H. Transformações de dados em experimentos com abobrinha italiana em ambiente protegido. *Ciência Rural*, v.39, p.1701-1707, 2009.

Esteves, B. S.; Suzuki, M. S. Efeito da salinidade sobre as plantas. *Oecologia Australis*, v.12, p.662-679. 2008.

Ferreira, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. *Ciência e Agrotecnologia*, v.38, p.109-112, 2014.

Huang, R. D. Research progress on plant tolerance to soil salinity and alkalinity in sorghum. *Journal of Integrative agriculture*, v.17, p. 739-746, 2018.

Khan, M. I. R.; Iqbal, N.; Masood, A.; Khan, N. A. Variation in salt tolerance of wheat cultivars: role of glycinebetaine and ethylene. *Pedosphere*, v.22, p.746-754, 2012.

Mendes, B. S. S.; Willadino, L.; Cunha, P. C.; Oliveira Filho, R. A.; Camara, T. R. Mecanismo fisiológicos e bioquímicos do abacaxi ornamental sob estresse salino. *Revista Caatinga*, v.24, p.71-77, 2011.

Munns, R.; Tester, M. Mechanism of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, v.59, p.651-681, 2008.

Nazar, R.; Iqbal, N.; Syeed, S.; Khan, N. A. Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under salt stress by enhancing nitrogen and sulfur assimilation and antioxidant metabolism differentially in two mungbean cultivars. *Journal of Plant Physiology*, v.168, p.807-815, 2011.

Sá, F. V. S.; Gheyi, H. R.; Lima, G. S.; Paiva, E. P.; Lacerda, C. F.; Fernandes, P. D. Saline water, nitrogen and phosphorus on water relations and physiological aspects of West Indian cherry. *Comunicata Scientiae*, v.9, p.430-437, 2018.

Santos, J. B.; Gheyi, H. R.; Lima, G. S.; Xavier, D. A.; Cavalcante, L. F.; Centeno, C. R. M. Morfofisiologia e produção do algodoeiro herbáceo irrigado com águas salinas e adubado com nitrogênio. *Comunicata Scientiae*, v.7, p.86-96, 2016.

Singh, H. P.; Batish, D. R.; Kohli, R. K.; Arora, K. Arsenic-induced root growth inhibition in mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.) is due to oxidative stress resulting from enhanced lipid peroxidation. *Plant Growth Regulation*, v.53, p.65-73, 2007.

Turan, S.; Tripathy, B. C. Salt and genotype impact on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in two rice cultivars during de-etiolation. *Protoplasma*, v.250, p.209-222, 2012.

Wellburn, A. R. The spectral determination of chlorophyll a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*, v.144, p.307-313, 1994.