



DEPOSIÇÃO ATMOSFÉRICA DE NITROGÊNIO E SEUS EFEITOS SOBRE A ECOFISIOLOGIA DE ESPÉCIES DOMINANTES DOS SISTEMAS DE CANGA.

Jane Eyre Casarino^{1,3}

N.A.M. Machado^{2,3}; G. Lopes³; I. Coura³; A. R. Kozovits³

1. Mestranda do Programa de Pós - Graduação em Ecologia de Biomias Tropicais, Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), Ouro Preto - MG, (eyrepaty@yahoo.com.br). 2. Mestranda do Programa de Pós - graduação em Evolução Crustal e Recursos Naturais, UFOP. 3. Laboratório de Ecofisiologia Vegetal, UFOP.

INTRODUÇÃO

Nos últimos 200 anos, as atividades humanas têm elevado a concentração de gases de efeito estufa e de poluentes gasosos e particulados na atmosfera a níveis capazes de alterar, direta ou indiretamente, o desenvolvimento de diferentes componentes da biosfera (Pitcairn *et al.*, 2006, IPCC 2007). Por ser o N um dos principais determinantes da produtividade vegetal, principalmente em ecossistemas de solos distróficos dos trópicos e subtropicais (Haridasan, 2001), o aumento de sua disponibilidade via deposição atmosférica pode provocar alterações na ecofisiologia de plantas afetando a dinâmica de populações, comunidades e funcionamento de ecossistemas (Bobbink *et al.*, 1998).

A magnitude do impacto da deposição nitrogenada deve variar entre os ecossistemas, mas espera-se que seja especialmente relevante em condições de solos distróficos, onde a maior parte das espécies vegetais possui baixos requerimentos de N (Pitcairn *et al.*, 2006). Neste contexto, os campos ferruginosos seriam potencialmente um dos sistemas mais afetados no Brasil, por possuírem solos que, quando presentes, são rasos, oligotróficos e com baixa capacidade de retenção de água (Ferreira & Magalhães, 1977). As espécies presentes devem apresentar adaptações ecofisiológicas que as permitam maximizar a captação e o uso de recursos limitantes e minimizar suas perdas.

Com relação ao N, a atividade de enzimas envolvidas em seu processo de assimilação é um parâmetro relevante para a compreensão da capacidade adaptativa das espécies. Em ecossistemas temperados, a atividade de redutase de nitrato tem sido usada como indicadora de poluição ambiental (Tischner, 2000; Calatayud *et al.*, 2007), proporcionando uma medida de diagnóstico precoce de estresse fisiológico, que se manifesta antes do aparecimento de sintomas visuais na planta (Tripathi & Gautam, 2007).

OBJETIVOS

Até o momento, pouca informação está disponível sobre o funcionamento dos sistemas de campos ferruginosos, e nenhum estudo foi feito sobre os processos ecofisiológicos relacionados à nutrição nitrogenada e especialmente sobre as respostas ao aumento da disponibilidade de N via deposição atmosférica. A compreensão da amplitude e da direção das respostas da comunidade à deposição atmosférica de N poderá alimentar modelos de dinâmica de populações em respostas às mudanças globais, subsidiar programas de recuperação de áreas degradadas e conservação da biodiversidade em Minas Gerais.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Área de Estudo

O estudo foi desenvolvido em uma área de preservação de campo ferruginoso localizada no Campus da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP)-MG. A vegetação é típica de campos ferruginosos (canga) havendo grande distribuição de espécies lenhosas e presença de espécies endêmicas no estado de Minas Gerais.

No presente estudo, foram escolhidas três espécies pertencentes a três grupos de funcionais distintos quanto ao uso de N a saber: espécies com alta (*Eremanthus incanus* (Less.) Less.), intermediária (*Byrsonima variabilis* A. Juss.) e baixa atividade de redutase de nitrato (NR) (*Matayba marginata* Radlk.). Dez indivíduos por espécie foram marcados, sendo cinco submetidos ao tratamento de simulação de deposição atmosférica de N através de fertilização e cinco pertencentes ao controle (sem fertilização).

2.2 - Tratamento de fertilização-(simulação da deposição atmosférica)

Parcelas de aproximadamente 1m² foram delimitadas, contendo em seu centro, um indivíduo de cada espécie escolhida para as análises. Cinco parcelas foram fertilizadas e cinco compuseram o controle. As parcelas ficaram distantes uma

das outras em uma distância mínima de 3 metros, para que não sofressem influência das outras. As parcelas fertilizadas receberam um total de 30 kg de N ha⁻¹ ano⁻¹, distribuídos em 12 aplicações mensais. O nitrogênio foi pontualmente aplicado na forma de nitrato de amônio diluído em água destilada por deposição sobre cada parcela, simulando a deposição atmosférica úmida de chuva ou de névoa.

2.3 - Análises em plantas

Crescimento relativo e alometria

Altura e diâmetro do caule, assim como número de folhas, seus comprimentos e larguras máximas foram mensurados mensalmente durante todo o período do estudo. A taxa de crescimento relativo para o período de um ano foi calculada da seguinte maneira: $TCR = (\bar{O}_f - \bar{O}_i) / \bar{O}_i \times 100\%$, onde \bar{O}_f = diâmetro do tronco no fim da estação de crescimento e \bar{O}_i = diâmetro do tronco no início da estação de crescimento. O crescimento do tronco foi relacionado à área foliar total de cada indivíduo, à concentração de N e à atividade de redutase de nitrato foliares.

Quando a maior parte das folhas da copa demonstrou estar maduras, uma amostra representativa de cada indivíduo foi coletada, sua área escaneada e determinada pelo programa ImageJ 1.39u (Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA). As folhas foram pesadas (PF, peso fresco), lavadas delicadamente com água destilada para retirada de poeira de sua superfície e levadas a secar em estufa a 65°C por 48 h ou até peso constante (PS, peso seco). A área foliar específica (AFE) foi calculada com base na área foliar e no peso seco.

A seguir, as folhas foram moídas e enviadas para análise de N e P na Universidade Federal de Viçosa. Quando as folhas marcadas começaram a demonstrar sinais de senescência, dois ramos por indivíduo foram envolvidos com tule para que as folhas pudessem ser coletadas logo após sua abscisão. As folhas coletadas sofreram o mesmo tratamento acima descrito para as folhas verdes e maduras. Assim, ao final do ano tivemos dados da variação de área foliar, AFE, número de folhas total, concentração de nutrientes (N e P) nas folhas, e taxa de crescimento relativo para cada espécie no controle e sob deposição de N.

Atividade de redutase de nitrato (NR)

Como descrito acima, uma espécie com alta atividade de RN (*Eremanthus incanus* (Less.) Less.), outra com baixa (*Matayba marginata* Radlk.) e uma terceira com atividade intermediária (*Byrsonima variabilis* A. Juss.) foram escolhidas para as análises. A atividade de NR foi determinada mensalmente em folhas dos 10 indivíduos por espécie (cinco no controle e cinco sob fertilização de N) sempre no mesmo período do dia (9:00 - 10:30 h).

Em cada indivíduo, folhas dos quatro pontos cardeais da copa foram coletadas e lavadas com água destilada para retirada de poeira e outros contaminantes. Com auxílio de um furador de 7 mm de diâmetro, amostras circulares das folhas foram retiradas, cortadas em 4 partes e colocadas em seringa de polietileno com 5 ml de tampão Tris 0,05 M, pH 7,5, 1% (v/v) n - propanol, 50 mM KNO₃ (atividade potencial), ou sem adição de KNO₃ (atividade real), onde sofreram infiltração sob vácuo. Uma amostra de 1 ml foi retirada (T0), e a seringa seguiu para incubação no escuro e anaerobiose durante 60 minutos, quando uma nova

amostra de 1 ml foi retirada (T60). Determinou-se a atividade em termos da quantidade de NO₂ - produzido após a reação com sulfanilamida e NNED (n - naftiletilenodiamino), resultando em coloração rosa. A absorvância foi lida a 540 nm em espectrofotômetro. A atividade real (sem adição de nitrato ao tampão) apresenta a capacidade de redução com os níveis internos de NO₃ - no momento da coleta, enquanto a atividade potencial (com adição de nitrato ao tampão) traduz a capacidade de indução da enzima pela maior oferta do substrato. A comparação entre as duas atividades pode indicar as espécies com maiores habilidades de responder ao aumento da disponibilidade de NO₃ - no ambiente servindo, portanto, como melhores indicadoras da poluição nitrogenada.

Análises Estatísticas

Os dados foram primeiro analisados quando à distribuição normal usando o teste de Kolmogorov - Smirnov. Em caso de distribuição não normal os dados sofreram transformação logarítmica. Os testes foram realizados usando ANOVA com post - hoc de Tukey. Considerando a variabilidade dos dados e a limitação do tamanho das amostras associado com as condições dos experimentos em campo, aumentou o nível de aceitação de p=0,1, que aumenta o poder do teste das hipóteses e reduz a probabilidade do erro tipo II (Perterman, 1990). O programa usado para as análises foi o SPSS versão 15.0.

RESULTADOS

De forma geral, o aumento da disponibilidade de N afetou o desenvolvimento das três espécies estudadas, que, entretanto, diferiram no tipo de resposta e em sua magnitude.

Com relação à atividade da enzima redutase de nitrato, verificou-se que a fertilização aumentou estendeu o período de ocorrência de atividade real durante a estação seca, sendo mensurada até maio e junho, meses em que não foram observadas atividades reais em folhas das plantas no controle. Por ser uma enzima modulada pelo seu substrato (NO₃ -), a fertilização deve ter induzido o aumento do nível constitutivo da NR, fazendo com que a atividade real fosse realizada mesmo em condições de solo seco, quando a absorção de NO₃ - tende a ser nula, aproveitando melhor o conteúdo de nitrogênio disponibilizado através da fertilização (Andrade Netto 2005). Maiores valores de atividade de NR real foram encontrados em *Matayba marginata* (18,5 μmolNg⁻¹h⁻¹), *Byrsonima variabilis* (12,7 μmolNg⁻¹h⁻¹) e *Eremanthus incanus* (11,7 μmolNg⁻¹h⁻¹).

Para muitas plantas, o aumento da atividade da NR em resposta à fertilização pode resultar em maiores taxas de crescimento relativo do caule e em ampliação da área foliar total (Andrews *et al.*, 1984). Dentre as espécies estudadas, *M. marginata* e *B. variabilis* responderam mais prontamente ao aumento da disponibilidade de nitrato, apresentando diferenças entre as atividades reais e potenciais de RN no grupo fertilizado em relação ao controle, enquanto não foram observadas diferenças significativas entre as atividades dos grupos controle e fertilizado em *E. incanus*. Muitas espécies, principalmente em solos ácidos,

preferem NH₄⁺ ao NO₃⁻ - como principal fonte nitrogenada, sendo menos responsivas ao aumento da disponibilidade do último (Bredemeier & Mundstock, 2000). Além disso, em algumas espécies, a redução do NO₃⁻ - pode ser realizada preferencialmente nas raízes (Bredemeier & Mundstock, 2000), e portanto, não seriam observadas maiores atividades de NR nas folhas em resposta à fertilização. Entretanto, no caso de *E. incanus*, estudos paralelos indicam que essa espécie destina o NO₃⁻ - captado para a redução preferencialmente na parte aérea (Lopes, 2008), e assim, o aumento da taxa de crescimento do caule dos indivíduos fertilizados em relação aos do controle deve estar mais relacionado ao aumento da disponibilidade de NH₄⁺.

De fato, a fertilização elevou a taxa de crescimento anual em altura dos indivíduos das três espécies, sendo mais alta em *E. incanus* (72,9%), seguida de *M. marginata* (32,2 %) e *B. variabilis* (28,6%), enquanto valores para as plantas no controle foram, respectivamente 42,2, 24,3 e 22,2 %. Com relação ao crescimento em diâmetro do tronco, *M. marginata* e *B. variabilis* apresentaram novamente o mesmo padrão, ou seja, maiores valores no grupo fertilizado, enquanto não foram observadas diferenças significativas em *E. incanus* entre as plantas fertilizadas e o controle. Aparentemente, as duas primeiras espécies investiram em reforço do tronco, crescimento secundário, enquanto *E. incanus* apresentou um comportamento típico de seu grupo funcional de pioneira, investindo principalmente em crescimento em altura (Scolforo *et al.*, 2002).

Em adição, a fertilização tendeu a aumentar a produção de folhas em 73% em *M. marginata*, 12% em *B. variabilis* e 6% em *E. incanus*, não havendo, entretanto, diferenças significativas entre os tratamentos quanto às concentrações de N e P nas folhas de nenhuma das espécies, tampouco em suas taxas de retranslocação durante a senescência. As taxas de retranslocação de ambos os elementos estão próximas as mensuradas em espécies de cerrado (cerca de 42% para N e 56% para P) (Kozovits *et al.*, 2007). Os valores médios de N e de P nas folhas maduras de *E. incanus*, *B. variabilis* e *M. marginata* foram 1,5 e 0,06; 1,4 e 0,05; 2,0 e 0,1 %, respectivamente, como os relatados por Kozovits *et al.*, 2007 e Nardoto *et al.*, 2006 para espécies de cerrado e Reich *et al.*, 1995 em florestas da Venezuela, sugerem que a limitação por P seja mais forte que por N nos campos ferruginosos.

CONCLUSÃO

No presente estudo, observou - se que o aumento da disponibilidade de N via deposição atmosférica pode causar mudanças relevantes nos padrões de crescimento e desenvolvimento (resultados de fenologia não foram apresentados) das espécies estudadas nos campos ferruginosos. As consequências disso em médio e longo prazo para os aspectos de competição e estruturação da comunidade ainda são desconhecidas, mas imagina - se que espécies mais nitrofilas devam ter vantagens sobre as demais.

Além disso, a atividade real de redutase de nitrato mostrou ser um bom parâmetro indicador da poluição atmosférica de nitrogênio, sendo aumentada nas plantas fertilizadas deste o início do experimento e estendida em meses nos quais normalmente não pode ser mensurada, enquanto alterações sig-

nificativas no crescimento e mudanças visuais nos indivíduos foram observadas somente ao final de um ano de experimentação.

Os dados de outros parâmetros de fenologia, concentração de N no solo e na deposição atmosférica úmida coletada ao longo do estudo estão em processo de análise contribuirão para um maior entendimento das respostas das plantas dos campos ferruginosos.

REFERÊNCIAS

- Andrade Netto, J. F. de. 2005.** Atividade das enzimas redutase de nitrato e glutamina sintetase em cafeeiro arábica. Dissertação-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 60p.
- Andrews M., Sutherland J.M., Thomas R.J. and Sprent J.I. 1984.** Distribution of nitrate reductase activity in six legumes: The importance of the stem. *New Phytologist*, **98**, 301-310.
- Bobbink R, Hornung M, Roelofs JGM. 1998.** The effects of air - borne nitrogen pollutants on species diversity in natural and semi - natural European vegetation. *Journal of Ecology* **86**: 717 - 738.
- Bredemeier, C., Mundstock, C. M. 2000.** Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. *Ciência Rural* **30**: 365 - 372.
- Calatayud A, Roca D, Gorbe E, Martinez PF. 2007.** Light acclimation in rose (*Rosa hybrid acv. Grand Gala*) leaves after pruning: Effects on chlorophyll a fluorescence, nitrate reductase, ammonium and carbohydrates. *Scientia Horticulturae* **111**: 152-159.
- Ferreira, M.B. & Magalhães, G.M. 1977.** Contribuição para o conhecimento da vegetação da Serra do Espinhaço em Minas Gerais (Serras do Grão Mogol e da Ibitipoca). In *Anais do XXVI Congresso Nacional de Botânica* (M.B. Ferreira Coord.), Rio de Janeiro, p. 189 - 202.
- Lopes, G. de C. 2005.** Atividade de redutase de nitrato em folhas e raízes de espécies nativas dos campos ferruginosos como parâmetro indicador de poluição nitrogenada. Monografia de Graduação. Universidade Federal de Ouro Preto.
- Haridasan M. 2001.** Nutrient cycling as a function of landscape and biotic characteristics in the cerrados of central Brazil. In: McClain ME, Victoria RL, Richey JE (ed.) *Biogeochemistry of the Amazon basin and its role in a changing world*. Oxford University Press, New York. 68 - 83pp.
- IPCC. 2007.** Climate change 2007: Synthesis report - Summary for policymakers. In. IPCC, Wembley - UK, pp 1 - 21.
- Kozovits, A. R., Bustamante, M. M. C., Garolfalo, C. R., Bucci, S., Franco, A. C., Goldstein, G., Meinzer, F. C. 2007.** BNutrient resorption and patterns of litter production and decomposition in a Neotropical Savanna. *Functional Ecology* **21**: 1034 - 1043.
- Nardoto, G.B., Bustamante, M.M.C., Pinto, A.S.; Klink, C.A. 2006.** Nutrient use efficiency at ecosystems and species level in savanna areas of Central Brazil and impacts of fire. *Journal of Tropical Ecology*. **22**:1 - 11.

- Peterman, R. 1990.** The importance of reporting statistical power: the forest decline and acidic deposition example. *Ecology*, **71**, 2024–2027.
- Pitcairn C, Fowler D, Leith I, Sheppard L, Tang S, Sutton M, Famulari D. 2006.** Diagnostic indicators of elevated nitrogen deposition. *Environmental Pollution* **144**: 941-950.
- Reich, P.B., Ellsworth, D.S., Uhl, C. 1995.** Leaf carbon and nutrient assimilation and conservation in species of differing successional status in an oligotrophic Amazonian forest. *Functional Ecology*, **9**: 65 - 67.
- Resende, J. 2001.** A ciclagem de nutrientes em áreas de Cerrado e a influência de queimadas controladas. PhD thesis, University of Brasília, Brasília.
- Scolforo, J.R.S., Oliveira, A.D.de, Davide, A.C., Mello, J.M.de, Acerbi Junior, F. W. 2002.** Manejo sustentável da candeia *Eremanthus erythropappus* e *Eremanthus incanus*. Relatório Técnico Científico. Lavras. UFLA - FAEPE. 350p.
- Tischner R. 2000.** Nitrate uptake and reduction in higher and lower plants. *Plant, Cell and Environment* **23**: 1005-1024.
- Tripathi AK, Gautam M. 2007.** Biochemical parameters of plants as indicators of air pollution. *J. of Environmental Biology* **28**: 127 - 132.