

# FLUORESCÊNCIA E TEORES DE CLOROFILAS EM ABACAXIZEIRO CV. PÉROLA SUBMETIDO A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SULFATO DE AMÔNIO<sup>1</sup>

DARLENE ANA DE PAULA VIEIRA<sup>2</sup>, TOMÁS DE AQUINO PORTES<sup>3</sup>,  
ELIANE STACCIARINI-SERAPHIN<sup>4</sup>, JOÃO BATISTA TEIXEIRA<sup>5</sup>

**RESUMO** - O presente trabalho teve como objetivo a análise da emissão da fluorescência da clorofila *a* e dos teores de clorofilas em plantas de *Ananas comosus* (L. Merrill) cv pérola, cultivadas em casa de vegetação, submetidas a quatro concentrações de nitrogênio por adição ou não de sulfato de amônio, de acordo com os seguintes tratamentos:  $T_0 = 0$   $T_{1/2} = 15$ ;  $T_1 = 30$ ; e  $T_2 = 60$  mg/kg solo. As determinações de fluorescência mínima ( $F_0$ ), máxima ( $F_m$ ), variável ( $F_v$ ), terminal ( $F_t$ ) e da eficiência fotoquímica máxima ( $F_v/F_m$ ) de folhas adaptadas ao escuro foram realizadas ao longo do dia, aos cinco dias após a segunda aplicação de sulfato de amônio, efetuada 120 dias após o transplântio. A adição de sulfato de amônio afetou a fluorescência variável e a máxima, mas não afetou a fluorescência mínima, a terminal nem a eficiência fotoquímica. Houve diferenças significativas entre os valores das variáveis da fluorescência ao longo do dia em que foram feitas as leituras. Houve diferenças nos teores de clorofilas foliares, em função das concentrações de sulfato de amônio aplicadas, com aumento para clorofila *a* e para a relação clorofila *a/b*, mas não para clorofila *b*.

**Termos para indexação:** *Ananas comosus*, nitrogênio, fotossíntese, plantas MAC.

## FLUORESCENCE AND LEVELS OF CHLOROPHYLL IN PINEAPPLE PLANTS CV. PEROLA SUBMITTED TO DIFFERENT CONCENTRATION OF AMMONIUM SULPHATE

**ABSTRACT** - The present research aimed to analyze chlorophyll *a* fluorescence emission as well as chlorophyll levels in *Ananas comosus* (L. Merrill) cv Pérola grown under greenhouse conditions and submitted to four concentration of nitrogen, through addition or not of ammonium sulphate according to the following treatments:  $T_0 = 0.000$ ;  $T_{1/2} = 0.015$ ;  $T_1 = 0.030$ ; and  $T_2 = 0.060$  g/kg soil. Determinations of minimum ( $F_0$ ), maximum ( $F_m$ ), variable ( $F_v$ ), and terminal ( $F_t$ ) fluorescence and maximum photochemical efficiency ( $F_v/F_m$ ) of dark-adapted leaves were realized during the day, five days after the second application of ammonium sulphate, carried out 120 days after the transplant. The results showed that the addition of ammonium sulphate affected variable and maximum fluorescence, but not minimum and terminal fluorescence neither the photochemical efficiency. There were significant alterations in relation to the time of the day in which the fluorescence was read. Differences in leaf chlorophyll concentration were significant among treatments in relation to variations of ammonium sulphate concentration, with increase for chlorophyll *a*, total and to the ratio chlorophyll *a/b*, but not for chlorophyll *b*.

**Index terms:** *Ananas comosus*, nitrogen, photosynthesis, CAM plants.

<sup>1</sup>(Trabalho 125-09). Recebido em: 22-05-2009. Aceito para publicação em: 18-01-2010. Suporte financeiro: CNPq (bolsa concedida ao segundo autor).

<sup>2</sup>Bióloga, Prof<sup>a</sup>. Ms. do Departamento de Química e Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia de Goiás-Câmpus-Inhumas. Avenida Universitária Vale das Goiabeiras, Inhumas-GO, CEP 75400-000, e-mail: darlene.vieira@inhumas.cefetgo.br;

<sup>3</sup>Agrônomo, Prof<sup>o</sup>. Dr. do Departamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Câmpus II, CEP 74001-970 Goiânia-GO, e-mail: portes@icb.ufg.br

<sup>4</sup>Bióloga, Prof<sup>a</sup>. Dra. do Departamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Câmpus II, CEP 74001-970 Goiânia-GO (UFG), e-mail: stacciariniseraphin@gmail.com;

<sup>5</sup>Agrônomo, PhD. da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, PqEB, Avenida W 5 Norte, final, CEP 70770-900 Brasília-DF, e-mail: batista@cenargen.embrapa.br

## INTRODUÇÃO

O abacaxi pertence ao grupo de plantas de metabolismo MAC (Metabolismo Ácido das Crassuláceas), muitas das quais adaptadas a regiões áridas, cuja principal característica é fechar os seus estômatos durante o dia e abri-los à noite, a fim de economizar água (KERBAUY, 2004). Devido ao metabolismo especial desse grupo de plantas, estudos sobre alguns nutrientes merecem atenção, em especial o nitrogênio, cuja assimilação tem estreita relação com a fotossíntese.

O nitrogênio é elemento essencial para as plantas por fazer parte de uma série de compostos indispensáveis ao seu desenvolvimento, como das moléculas de clorofila, das bases nitrogenadas dos nucleotídeos, dos aminoácidos, proteínas (dentre as quais a enzima ribulose 1,5-bifosfato carboxilase oxigenase – Rubisco, catalisadora da redução fotossintética do  $\text{CO}_2$ ) e de vários compostos do metabolismo secundário. Para fazer parte destas substâncias, o nitrogênio deve ser absorvido da rizosfera pelas raízes, onde deve estar disponibilizado normalmente na forma de  $\text{N-NH}_4^+$  ou  $\text{N-NO}_3^-$  (CAMPBELL; FARRELL, 2006; TAIZ; ZEIGER, 2008).

Uma vez absorvido, as plantas assimilam nas raízes todo o  $\text{NH}_4^+$  e entre 5% a 95 % do  $\text{NO}_3^-$ , e o restante do  $\text{NO}_3^-$  será assimilado na parte aérea da planta (OAKS; HIREL, 1985; ANDREWS, 1986). O nitrogênio, na forma de amônio, necessita ser prontamente assimilado, caso contrário, ocorrerão danos à célula, pois é um cátion que funciona como desacoplador de elétrons inibindo a síntese de ATP nas membranas (TAIZ; ZEIGER, 2008). O amônio pode ser assimilado por duas vias: Ciclo da Síntese do Glutamato, conhecido como rota da GS/GOGAT, e pela rota da Glutamato Desidrogenase, conhecida como rota GDH (LEA; MIFLIN, 1974). A reação no processo de assimilação do amônio requer redutor biológico - NAD(P)H, ou ferredoxina provenientes da fase fotoquímica e de transferência de elétrons (fluxo linear de elétrons a partir da água através do PSII e do PSI até os receptores) da fotossíntese (TAIZ; ZEIGER, 2008). Na raiz, o suprimento de redutor é via processo respiratório (BLOOM et al., 1992).

Como a assimilação do N requer esqueletos carbônicos e energia, foi encontrada uma estreita relação entre a assimilação do N e o metabolismo do carbono (RUNGE, 1983; CAMPBELL; FARRELL, 2006; TAIZ; ZEIGER, 2008). Por essa razão, a capacidade fotossintética das plantas e o metabolismo do nitrogênio estão diretamente interligados (FONTES et al., 2008).

O enxofre, que também é encontrado na molécula do sulfato de amônio, é o menos abundante dos macronutrientes encontrados nas plantas. A sua proporção é de aproximadamente 0,1% da massa seca, comparada aos aproximadamente 1,5% de nitrogênio e 45% de carbono (LEUSTEK et al., 2000). A sua influência na fase fotoquímica da fotossíntese não é relatada na literatura, mas a sua assimilação depende de ferredoxina reduzida, o que poderia resultar em alterações no sinal da fluorescência.

A fixação do  $\text{CO}_2$  (fase bioquímica da fotossíntese) é a reação principal acionada pelo ATP e pelo redutor produzidos na fase fotoquímica. Nesta fase (fotoquímica), os elétrons ejetados dos pigmentos fotossintetizantes não utilizados na produção de ATP e NADPH através dos fotossistemas retornam aos pigmentos reemitindo a luz absorvida, na forma de fluorescência e calor (CAMPBELL; FARRELL, 2006; TAIZ; ZEIGER, 2008). Essa é uma parte da energia absorvida pelas plantas que é perdida, isto é, não transferida para a produção de ATP, NADPH e ferredoxina reduzida (Fdr). A interpretação dos sinais da fluorescência já foi bem discutida (MAXWELL; JOHNSON, 2000; BAKER; ROSENQVIST, 2004). O sinal básico da fluorescência possui níveis característicos, que refletem o “status” da planta naquele momento, em relação ao seu próprio metabolismo e deste com o ambiente em que se encontra (RIBEIRO et al., 2004; BAKER, 2008). Os níveis característicos principais e as relações entre os mesmos, utilizados neste trabalho, são: a fluorescência mínima ( $F_0$ ), máxima ( $F_m$ ), terminal ou estável ( $F_t$ ), variável ( $F_v$ ) e a relação  $F_v/F_m$ . A diferença entre  $F_m$  e  $F_0$  é chamada de fluorescência variável,  $F_v$  ( $F_v = F_m - F_0$ ) (PORTES, 1990).

A razão entre a fluorescência variável e a fluorescência máxima pode ser útil para estudo da fotossíntese em plantas com metabolismo MAC, como o abacaxizeiro (KELLER; LÜTTGE, 2005), cujo metabolismo é diferente das plantas mesófitas para as quais as técnicas para medida de trocas gasosas (produção de  $\text{O}_2$  e fixação de  $\text{CO}_2$ ) são eficientes.

Por participar da composição estrutural da molécula de clorofila na porção porfirina, nos anéis tetrapirrólicos, muitos experimentos realizados com diversas culturas indicam existir correlação positiva entre concentrações de nitrogênio e os teores foliares de clorofila, com as características de crescimento das plantas (TAIZ; ZEIGER, 2008).

Por alterar as reações bioquímicas do metabolismo do carbono, bem como da síntese de clorofila, acredita-se que o nitrogênio possa alterar o sinal básico da emissão da fluorescência bem como os teores de clorofilas em abacaxizeiro. O sulfato de amônio

é a forma mais utilizada na agricultura como fonte de N; como consequência, o enxofre é adicionado, podendo ser benéfico em solos carentes, ou não, em vista do seu poder acidificante.

Assim, o objetivo deste experimento foi analisar como o sulfato de amônio adicionado ao solo influencia nas características da cinética de emissão de fluorescência da clorofila *a*, bem como nos teores foliares de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total (*a+b*) e a razão das clorofilas (*a/b*) em plantas de abacaxi (*Ananas comosus*) cv. pérola em condições de casa de vegetação.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, Câmpus Samambaia.

As mudas de *Ananas comosus* (L.) Merrill cv. pérola utilizadas neste estudo foram cedidas pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, sendo produzidas *in vitro* a partir de gemas axilares de mudas do tipo filhote. O preparo e a inoculação do material vegetal ocorreram em câmara de fluxo laminar, onde foi realizada a poda das folhas e raízes das plântulas, utilizando-se como explantes apenas da haste com a parte basal das folhas. Os explantes foram cultivados no meio MS, acrescido de ANA e BAP nas concentrações de 2,5 mM e 10,0 mM, respectivamente, por 120 dias. As culturas foram mantidas em sala de cultivo com luminosidade de 30  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , temperatura de  $25 \pm 3^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 16 horas.

Quando as plantas se encontravam com média de oito folhas e altura média de 6,5 cm, foram transferidas do meio de cultura para copos plásticos de 300 mL contendo o substrato Plantmax<sup>1</sup> e aclimatadas em casa de vegetação em sombreamento de 50% durante 50 dias, em seguida transferidas para condição de 25%, por 56 dias. Durante o período de aclimação, as plantas foram tratadas com solução nutritiva completa de Hoagland modificada, citado por Taiz e Zeiger (2008).

As amostras de solo para análise foram coletadas anteriormente à implantação do experimento, na profundidade de 0-20 cm, conforme metodologia descrita pela Comissão de Fertilidade do Solo de Goiás (1988). Os atributos químicos e físicos do solo apresentavam as seguintes características: pH = 4,9, Al = 0,0 cmolc/dm<sup>3</sup>, Ca = 0,8 cmolc/dm<sup>3</sup>, Mg = 0,2 cmolc/dm<sup>3</sup>, K = 50,0 mg/dm<sup>3</sup>, P = 0,1 mg/dm<sup>3</sup>, V = 28,7 g.kg<sup>-1</sup>, matéria orgânica = 1,4 dag/ dm<sup>3</sup>,

areia, silte e argila, respectivamente, 29,0 g.kg<sup>-1</sup>, 19,0 g.kg<sup>-1</sup>, e 52,0 g.kg<sup>-1</sup>.

Após o período de aclimação, as plantas foram transferidas para vasos, cada um contendo 10 kg de solo com caracterização física e química conforme citado anteriormente. Ao final, foram 32 vasos com uma planta por vaso. O solo foi previamente corrigido com calcário dolomítico e enriquecido com 952 mg.kg<sup>-1</sup> de superfosfato triplo e 689 mg.kg<sup>-1</sup> de cloreto de potássio. Durante o período do experimento, as plantas receberam volume de água igual e diário, apenas suficiente para manter o solo úmido, mas sem perda por lixiviação.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, consistindo de quatro concentrações de sulfato de amônio (SA) em esquema de parcelas subdivididas, sendo as concentrações de SA dispostas nas parcelas, e as diferentes horas das leituras, nas subparcelas. Foi considerado como unidade experimental um vaso contendo uma planta. As concentrações de SA foram: T<sub>0</sub>= sem SA (testemunha ou controle); T<sub>1/2</sub>= 15; T<sub>1</sub>=30 e T<sub>2</sub>=60 mg/kg de solo. Os tratamentos com SA foram aplicados 50% em cobertura, aos 60 dias, e 50% aos 120 dias após o transplante para os vasos.

A determinação dos níveis do sinal da cinética de emissão de fluorescência (F<sub>0</sub>, F<sub>v</sub>, F<sub>t</sub> e F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>) foi realizada cinco dias após a adição da segunda parcela do SA. As leituras foram feitas em folhas adaptadas ao escuro e, para simular a adaptação das folhas ao escuro, utilizou-se de pinças que acompanham o fluorômetro. Elas foram colocadas na região mediana da quarta folha do ápice para a base. Após 30 minutos de adaptação da folha ao escuro, emitiu-se um pulso de luz saturante de 10 segundos, na frequência de 0,6 KHz, na face abaxial da folha, utilizando-se de um fluorômetro portátil (PEA – Plant Efficiency Analyser, Hansatech), sendo registrados os valores das fluorescência inicial (F<sub>0</sub>), máxima (F<sub>m</sub>), variável (F<sub>v</sub>), terminal (F<sub>t</sub>) e a eficiência fotoquímica (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>).

Para avaliar o comportamento das plantas submetidas às concentrações de SA, ao longo do dia, foram feitas onze leituras durante o dia, com início às 6 horas e o término às 18 horas.

A extração da clorofila foi feita aos 30 dias após a última aplicação do SA, conforme o método de Arnon (1949). Cinquenta mg de tecido foram retirados da região mediana da quarta ou quinta folha do ápice para a base da roseta. As amostras foram colocadas em tubos graduados, envolvidos com papel-alumínio (para manter a solução protegida da luz), contendo sete mL de solução extratora (acetona 80%) e levados para a geladeira por cinco dias, para a extração total da clorofila (as amostras

<sup>1</sup>Nome comercial do produto

ficaram completamente descoloridas). Após os cinco dias, eliminaram-se os resíduos da solução e completou-se o volume de cada tubo para 10 mL, em seguida foi homogeneizada e retirada uma alíquota para leitura de absorbância em espectrofotômetro, Modelo Metertek Sp – 850. As absorbâncias dos extratos cetônicos foram tomadas nos comprimentos de ondas 663 e 645 nm, e os cálculos das concentrações de clorofilas *a* e *b* foram realizados utilizando as equações seguintes expressas em miligramas de clorofila por grama de material fresco: Clorofila *a* = [(12,7 x A<sub>663nm</sub>) – (2,69 x A<sub>645nm</sub>)] x 10mL/[peso (50 mg)\*1000], Clorofila *b* = [(22,9 x A<sub>645nm</sub>) – (4,48 x A<sub>663nm</sub>)] x 10mL/[peso (50 mg)\*1000], sendo A a absorbância no comprimento de onda indicado.

Os dados foram submetidos à análise de variância, e a comparação de médias, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. As análises foram feitas com o auxílio do SAS – Statistical Analysis System.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando a Tabela 1, observa-se que não houve diferença significativa para  $F_0$ ,  $F_v/F_m$  e  $F_t$  nas plantas submetidas a diferentes concentrações de sulfato de amônio, mas houve diferença para  $F_v$  e  $F_m$ , com redução nos valores destas variáveis

Em se tratando da fluorescência inicial ( $F_0$ ), presume-se que sua emissão, que ocorre dentro do estágio rápido da fluorescência, representa a energia liberada pelas moléculas de clorofila *a* da antena do fotossistema II, antes dos elétrons migrarem para o centro de reação P 680 (PSII), sendo o componente mínimo do sinal da fluorescência (MATHIS; PALLOTIN, 1981). Portanto, é uma perda fotoquímica que se espera, não influenciável ou pouco influenciável pela presença ou não do N. Porém, na literatura, muitos resultados, contróvertidos, têm sido apresentados. Em milho (planta C4), Lu e Zhang (2000) verificaram que o N não exerce efeito em  $F_0$ . Lima et al. (1999) encontraram aumento significativo na  $F_0$  em plantas de feijão submetidas a alto nível de nitrogênio. Em relação ao fluxo luminoso (densidade de fluxo de fótons), trabalhando com espécies arbóreas, Dias e Marengo (2007) encontraram decréscimos na  $F_0$  ao transferir plantas de menor para maior fluxo luminoso e, em temperaturas diferentes, sugerem que a redução é devida a dano na proteína D1 do PSII. Gonçalves et al. (2001) encontraram valores elevados de  $F_0$  e diferenças significativas para  $F_0$  entre plantas de mogno (*Swietenia macrophylla* King), crescidas

ao sol e à sombra.

Aumentos de  $F_0$  podem ocorrer, mas quando há dano no centro de reação do fotossistema II, ou por uma redução na transferência de energia de excitação do sistema coletor de luz para o centro de reação (MATHIS; PALLOTIN, 1981; BAKER; ROSENQVIST, 2004).

Na Tabela 2, percebe-se que houve aumentos nos valores de  $F_0$  em função do aumento natural da temperatura ao longo do dia. Os menores valores da fluorescência inicial ( $F_0$ ) foram no período da manhã, até por volta das 7 horas, a partir das 8 horas, a  $F_0$  aumentou e manteve-se até às 16 horas, quando ocorreu declínio. Estas alterações nos valores de  $F_0$  estão mais relacionadas com as mudanças de temperatura em que as leituras foram feitas ao longo do dia, como encontrado por Portes (1990), do que com alterações na estrutura do PSII.

A fluorescência máxima ( $F_m$ ), cujos valores foram diferentes nas plantas submetidas a diferentes níveis de SA (Tabela. 1), também se encontra situada dentro do estágio rápido da fluorescência. Ocorre mais lentamente que  $F_0$  e representa a energia liberada ou perdida pelos elétrons que, ejetados dos seus átomos, podem alcançar o extintor  $Q_A$  (Quinona, receptora primária estável de elétrons do PSII), mas, pela presença de algum bloqueador do fluxo eletrônico, ou falta de demanda na produção de NADPH ou ATP ou Frd, retornam às suas moléculas de origem (MATHIS; PALLOTIN, 1981; BAKER, 2008). Valores de fluorescência máxima ( $F_m$ ) podem ser obtidos de discos foliares embebidos com DCMU (Herbicida Diuron). Este herbicida, do grupo das ureias substituídas, funciona bloqueando o fluxo eletrônico logo após o extintor Quinona ( $Q_A$ ). Mais adequadamente, sem agente estressor, a  $F_m$  é obtida permitindo à planta adaptar-se ao escuro por 30 minutos ou mais, condição em que os seus centros de reação se tornam “abertos”, e a Quinona ( $Q_A$ ) se encontra oxidada. Aplicando um flash de luz logo após a adaptação ao escuro, obtém-se a  $F_m$  (PORTES, 1990).

Os resultados obtidos neste trabalho para o abacaxizeiro mostram que ocorreram pequenas reduções de  $F_m$  em maiores concentrações de SA (Tabela 1). Em milho, o N reduz  $F_m$  de folhas adaptadas ao escuro e, em seguida, submetidas à flash de luz de alta intensidade (LU; ZHANG, 2000). Entretanto, como mostrado por Martínez-Carrasco et al. (2002), isto não deve ser um problema de dano no centro de reação do fotossistema II, pois isto só ocorre quando a energia de excitação excede a capacidade de dissipação, podendo o fato, então, estar associado ao metabolismo MAC do abacaxi (KELLER; LÜTTGE, 2005).

Nas condições do presente experimento, o que

mais contribuiu para a redução da  $F_m$  foi, possivelmente, o aumento natural da temperatura ao longo do dia, pois aumento na temperatura na faixa fisiológica reduz a  $F_m$  (PORTES, 1990).

Os valores de  $F_t$  foram similares nas plantas submetidas a diferentes concentrações de SA (Tabela 1), não ocorrendo diferença significativa. Decréscimo na  $F_t$  normalmente é acompanhado de elevação na taxa fotossintética líquida (assimilação do  $CO_2$ ), indicando a utilização, na fase bioquímica, do ATP e do NADPH produzidos na fase fotoquímica, como constatado por Bacarin e Mosquim (2002), trabalhando com feijoeiro. A  $F_t$  é a fluorescência terminal ou estável. É parte da fluorescência lenta do sinal. É uma energia perdida pelos elétrons que já ultrapassaram o extintor Q, na cadeia transportadora de elétrons na membrana do tilacoide, a caminho do PSI. A não alteração na  $F_t$  significa que as concentrações de SA aplicados não interferiram na síntese de ATP nem de NADPH, isto é, no fluxo de elétrons entre os fotossistemas.

Para a fluorescência variável ( $F_v$ ), houve diferença estatística entre os tratamentos (Tabela 1). Com valores de  $F_0$  muito próximos e com valores de  $F_m$ , variando estatisticamente, é natural encontrar diferença para  $F_v$ , já que esta é a diferença entre  $F_m$  e  $F_0$  ( $F_v = F_m - F_0$ ).

A resposta mais importante da planta, em se tratando de fluorescência de folhas adaptadas ao escuro, por pelo menos 30 minutos, é a  $F_v$ . Quanto maior a  $F_v$  maior a capacidade da planta em transferir a energia dos elétrons ejetados das moléculas dos pigmentos para a formação do redutor NADPH, ATP e Fdr e, conseqüentemente, maior a capacidade de assimilação do  $CO_2$  na fase bioquímica da fotossíntese (ROHÁČEK, 2002; BAKER, 2008).

Em relação à hora do dia em que as leituras foram feitas, a emissão de fluorescência variável ( $F_v$ ) foi decrescendo até às 12 horas, recuperando-se depois do meio-dia. A  $F_v$  reduz-se com a temperatura em que a leitura é feita (PORTES, 1990).

As eficiências fotoquímicas ( $E_f$ ) do PSII ( $F_v/F_m$ ), nas folhas adaptadas ao escuro, não variaram nas plantas tratadas com SA nas concentrações testadas (Tabela 1). Os valores situaram-se entre 0,71 e 0,74, inferiores a valores encontrados para plantas C3 e C4. Para feijão, Ribeiro et al. (2004) encontraram valores de 0,8 em medidas feitas pela manhã, entre 6 e 8 h e após as 17 h. Lu e Zhang (2000), em plantas de milho em condições de alto N, encontraram que a razão  $F_v/F_m$  foi de 0,816, mas, submetidas à deficiência de N, reduziu-se para 0,767. Este decréscimo na  $E_f$  foi devido à  $F_m$ , pois a  $F_0$  permaneceu constante, em torno de 0,318, mas a  $F_m$  caiu significativamente de 1,644

para 1,364. Mesmo para o abacaxi planta CAM, têm-se encontrado resultados diferentes. Catunda et al. (2005) encontraram valores de 0,8 em plantas de abacaxi em condições de cultivo normal de clima e solo. Ao aplicar os herbicidas amicarbazone e diuron + paraquat nas plantas, obtiveram para a razão ( $F_v/F_m$ ) 0,66 e 0,19, respectivamente. As diferenças nos valores encontrados na presente pesquisa (0,71) e de Catunda et al. (2005), nas plantas em condições normais (0,80), podem ser devidas a condições de cultivo.

Os maiores valores da eficiência fotoquímica ( $F_v/F_m$ ) foram às 6 e às 18 horas, e a menor foi às 10 horas (Tabela 2). Essas mudanças devem estar relacionadas às variações de temperatura ao longo do dia.

A assimilação do enxofre a partir do sulfato até cisteína é uma reação energeticamente desfavorável, com gasto de ATP, ocorrendo nos plastídios e principalmente nas folhas (LEUSTEK et al., 2000; TAIZ; ZEIGER, 2008). Acredita-se que a preferência pela assimilação nas folhas é devida à fotossíntese, por disponibilizar a ferredoxina reduzida na fase fotoquímica, e à fotorrespiração gerando serina, envolvida na referida assimilação (LEUSTEK et al., 2000).

Diferentemente da assimilação do nitrogênio, estreitamente relacionada à fotossíntese e à respiração, a assimilação do enxofre não tem, ou tem pouca referência da existência dessa interação. Presume-se que é pela sua baixa proporção na massa seca (0,1%), quando comparado ao nitrogênio (1,5%) e ao carbono (45%) (LEUSTEK et al., 2000).

É importante sugerir que precauções devem ser tomadas em trabalhos que envolvam leituras das variáveis da fluorescência em diferentes temperaturas em que as medidas estão sendo feitas, uma vez que os equipamentos portáteis, normalmente, não possuem correção automática de temperatura. Assim, medidas feitas em ambientes diferentes devem ser feitas com o equipamento a uma mesma temperatura, o que normalmente é inviável em se tratando de trabalho em campo, com equipamento portátil.

Observando-se os dados da Tabela 3, percebe-se que ocorreu aumento significativo do teor de clorofila *a* com a aplicação do sulfato de amônio (metade da dose recomendada, 15 mg/kg), entretanto não houve diferença entre os tratamentos com 15; 30 e 60 mg/kg e os teores de clorofila *a* permanecerem constantes, nas concentrações de 15; 30 e 60 mg/kg de sulfato de amônio. Esta invariabilidade nos teores de clorofila *a* nos tratamentos com 15; 30 e 60 mg/kg pode refletir-se na manutenção da captura de luz pelo sistema antena dos fotossistemas I e II e na capacidade de transferência de elétrons na cadeia

fotossintética (HUANG et al., 2004).

Pode-se observar também, na Tabela 3, que a concentração de clorofila *b* foi maior no tratamento com 15 mg/kg, e que a menor foi encontrada no tratamento com 60 mg/kg, demonstrando uma desproporcionalidade no aumento das concentrações de clorofila *a* e *b* em abacaxizeiro, em função de concentrações de SA. Deve salientar-se que uma proporção relativa maior de clorofila *b* é uma característica importante, pois possibilita a captura de fótons de outros comprimentos de onda.

O conteúdo das clorofilas das folhas representa uma característica apropriada na avaliação da aquisição de N pelas plantas, sob diferentes condições ambientais. Assim, a disponibilidade de N pode influenciar decisivamente na capacidade fotossintética das plantas (TAIZ; ZEIGER, 2008).

Houve pouca variação nos teores foliares de clorofila total entre as plantas de abacaxi, aos 30 dias após a adição da segunda aplicação de sulfato de amônio (Tabela 3). Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Esposti (2000) em citros. Este autor constatou pouca variação nos teores foliares de clorofila total em porta-enxertos após adição de N.

Os resultados indicam que o sulfato de amônio aumentou a razão clorofila (*a/b*). Tal razão oscilou entre 2,249 mg.g<sup>-1</sup> nas plantas tratadas com 15 mg/kg de SA e 2,883 mg.g<sup>-1</sup> nas plantas tratada com 60 mg/kg, valores característicos de plantas crescidas em condições de baixa intensidade luminosa (GONÇALVES et al., 2001).

O pequeno impacto do N aplicado, na forma de sulfato de amônio, sobre a emissão da fluorescência de folhas adaptadas ao escuro, bem como sobre os teores de clorofila, pode ser devido ao modo de aplicação, pois estima-se que menos de 50% do nitrogênio aplicado sob a forma de fertilizantes no solo é utilizado pelas plantas, sendo o restante perdido por várias causas como lixiviação do nitrato, volatilização da amônia entre outras (TAIZ; ZEIGER, 2008).

Por outro lado, como a totalidade do NH<sub>4</sub><sup>+</sup> absorvido pelas raízes deve ser assimilada nas próprias raízes, o impacto deste íon na fluorescência não deve ser tão pronunciado, como encontrado no presente trabalho, como presumivelmente deve ser o do íon NO<sub>3</sub><sup>-</sup>; este é translocado até os cloroplastos onde ocorre a sua redução e assimilação, com gasto direto de energia e redutor da fase fotoquímica da fotossíntese e, por essa razão, a sua presença provocaria um efeito maior no processo fotoquímico do que o do íon NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (OAKS; HIREL, 1985; ANDREWS, 1986).

**TABELA 1** - Valores médios de Fluorescência inicial (F<sub>0</sub>), Fluorescência variável (F<sub>v</sub>), Fluorescência máxima (F<sub>m</sub>), Eficiência Fotoquímica (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>) e Fluorescência terminal (F<sub>t</sub>) de plantas de *Ananas comosus* (L.) Merrill, cv. Pérola, em função das concentrações de sulfato de amônio.

Concentrações de Sulfato de Amônio (mg.kg <sup>-1</sup> )	F <sub>0</sub>	F <sub>v</sub>	F <sub>m</sub>	F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	F <sub>t</sub>
0	520a*	1298ab	1818a	0,71a	520a
15	505a	1400a	1898a	0,74a	490a
30	500a	1296ab	1796ab	0,71a	510a
60	480a	1154b	1611b	0,72a	480a
C.V%	9,0	13,6	9,6	7,8	37,0

\* Médias acompanhadas da mesma letra, dentro da mesma coluna, não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

**TABELA 2**-Valores médios de Fluorescência inicial ( $F_0$ ), Fluorescência variável ( $F_v$ ), Fluorescência máxima ( $F_m$ ), Eficiência Fotoquímica ( $F_v/F_m$ ) e Fluorescência terminal ( $F_t$ ) de plantas de *Ananas comosus* (L.) Merrill, cv Pérola, em razão do Horário em que foram feitas as leituras.

Horários das leituras de Fluorescência	Temperatura da estufa	$F_0$	$F_v$	$F_m$	$F_v/F_m$	$F_t$
06 h	18 °C	450e*	1500a	1932abc	0,77a	630b
07 h	19 °C	470de	1392abc	1859bcd	0,75ab	680ab
08 h	21 °C	580a	1431ab	2002 <sup>a</sup>	0,71bc	800a
09	23 °C	560ab	1129ef	1650fg	0,69cd	440c
10 h	36 °C	530bc	1054f	1582g	0,66d	350c
12 h	38 °C	520c	1141ef	1659efg	0,68cd	330c
13 h	41 °C	530bc	1194def	1751def	0,69cd	340c
14 h	40 °C	500cd	1193def	1676efg	0,69cd	350c
16 h	40 °C	490cd	1261cde	1738def	0,72bc	420c
17 h	34 °C	470de	1326bcd	1798cde	0,72bc	360c
18 h	21 °C	440e	1503a	1941ab	0,77a	790a

\* Médias acompanhadas da mesma letra, dentro da mesma coluna, não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

**TABELA 3** - Valores médios dos teores de clorofila *a* e *b*), clorofila total (*a+b*) e razão de clorofila *a/b* ( $\text{mg.g}^{-1}$  de massa da matéria fresca) em folhas de *Ananas comosus* (L.) Merrill, cv. Pérola, tratadas com diferentes concentrações de sulfato de amônio.

Concentrações de Sulfato de Amônio ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )	Clorofila <i>a</i> ( $\text{mg.g}^{-1}$ )	Clorofila <i>b</i> ( $\text{mg.g}^{-1}$ )	Clorofila Total ( $\text{mg.g}^{-1}$ )	Clorofila <i>a/b</i> ( $\text{mg.g}^{-1}$ )
0	0,249b*	0,145ab	0,395b	1,726c
15	0,407a	0,180a	0,587a	2,249b
30	0,434a	0,154ab	0,588a	2,834a
60	0,388a	0,135b	0,523ab	2,883a
C.V%	21,6	19,7	20,8	6,2

\* Médias acompanhadas da mesma letra, dentro da mesma coluna, não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

## CONCLUSÕES

1-A eficiência fotoquímica ( $F_v/F_m$ ) e a fluorescência terminal ( $F_t$ ) em abacaxizeiro não são alteradas em função da aplicação de sulfato de amônio ao solo até a concentração de 60 mg/kg.

2-A fluorescência máxima ( $F_m$ ) sofre declínio com o aumento na concentração de sulfato de amônio.

3-Há incrementos no teor de clorofila *a*, clorofila total, na razão clorofilas *a/b*, nas plantas tratadas com sulfato de amônio.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pela bolsa concedida ao segundo autor. Aos revisores, cujas sugestões tornaram o artigo melhor.

## REFERÊNCIAS

ANDREWS, M. The partitioning of nitrate assimilation between root and shoot of higher plants. **Plant, Cell Environment**, Oxford, v.9, p.511-519, 1986.

ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidases in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Maryland, v.24, p.1-15, 1949.

BACARIN, M. A.; MOSQUIM, P. R. Cinética de emissão de fluorescência das clorofilas de dois genótipos de feijoeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.4, p.705-710, 2002.

- BAKER, B. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. **Annual Review of Plant Biology**, Boca Raton, v.59, p.89-113, 2008.
- BAKER, N. R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v.55, p.1607-1621, 2004.
- BLOOM, A.J.; SUKRAPANNA, S.S.; WARNER, R.L. Root respiration associated with ammonium and nitrate absorption and assimilation by barley. **Plant Physiology**, Lancaster, v.99, p.1294-1301, 1992.
- CAMPBELL, M. K.; FARRELL, S. O. **Bioquímica**. 5. ed. São Paulo: Thomson, 2006. p.845.
- CATUNDA, M.G.; FREITAS, S.P.; OLIVEIRA, J.G. Effects of herbicides on the photosynthetic activity of pineapple (*Ananas comosus*). **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v.23, n.1, p.115-121, 2005.
- COMISSÃO DE FERTILIDADE DE SOLOS DE GOIÁS. **Recomendação de corretivos e fertilizantes para Goiás: 5ª aproximação**. Goiânia: UFG-EMGOPA, 1988. p.101.
- DIAS, D. P.; MARENCO, R. A. Fotossíntese e fotoinibição em mogno e acariquara em função da luminosidade e temperatura foliar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.3, p.305-311, 2007.
- ESPOSTI, M. D. D. **Adubação e nutrição nitrogenada de porta-enxertos de citros produzidos em vasos**. 2000. 96 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2000.
- FONTES, R. V.; SANTOS, M. P.; FALQUETO, A. R.; SILVA, D. M. Atividade da redutase do nitrato e fluorescência da clorofila *a* em mamoeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.1, p.251-254, 2008.
- GONÇALVES, J.F.de C.; MARENCO, R.A.; VIEIRA, G. Concentration of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of Mahogany and Tonka bean under two light environments. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v.13, n.2, p.149-157, 2001.
- HUANG, Z. A.; JIANG, D.A.; YANG, Y.; SUN, J.W.; JIN, S.H. Effects of nitrogen deficiency on gas exchange, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzymes in leaves of rice plants. **Photosynthetica**, Prague, v.3, n.42, p.357-364, 2004.
- KELLER, P.; LÜTTGE, U. Photosynthetic light-use by three bromeliads originating from shaded sites (*Ananas ananassoides*, *Ananas comosus* cv. Panare), and exposed sites (*Pitcairnia pruinosa*) in the medium Orinoco basin, Venesuela. **Biologia Plantarum**, Brno, v.49, n.1, p.73-79, 2005.
- KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p.452.
- LEA, P.J.; MIFLIN, B.J. Alternative route for nitrogen assimilation in higher plants. **Nature**, London, v.251, p.614-616, 1974.
- LEUSTEK, T.; MARTIN, M. N.; BICK, J. A.; DAVIS, J. P. Pathways and regulation of sulfur metabolism revealed through molecular and genetic studies. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.51, p.141-165, 2000.
- LIMA, J.D.; MOSQUIM, P. R.; MATTA, F. M. da. Leaf exchange and chlorophyll fluorescence parameters in *Phaseolus vulgaris* as affected by nitrogen and phosphorus deficiency. **Photosynthetica**, Prague, v.37, n.1, p.113-121, 1999.
- LU, C.; ZHANG, J. Photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation, chlorophyll fluorescence and photoinhibition as affected by nitrogen deficiency in maize plants. **Plant Science**, Limerick, v.151, p.135-143, 2000.
- MATHIS, P.; PALLOTIN, G. Primary process of photosynthesis. In: HATCH, M.D.; BOARDMAN, N. K. (Ed.). **The biochemistry of plants**. New York: Academic Press, 1981. p.97-161.
- MARTÍNEZ-CARRASCO, R.; SÁNCHEZ-RODRIGUEZ, J.; PÉREZ, P. Changes in chlorophyll fluorescence during the course of photoperiod and in response to drought in *Casuarina equisetifolia* Forst and Forst. **Photosynthetica**, Prague, v.40, n.3, p.363-368, 2002.

- MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.51, n.345, p.659-668, 2000.
- OAKS, A.; HIREL, B. Nitrogen metabolism in roots. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.36, p.345-365, 1985.
- PORTES, T. DE A. **A emissão de fluorescência pela clorofila *a* e o balanço de O<sub>2</sub> como parâmetros de determinação da variabilidade genética condicionante da produtividade em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 1990. 96 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1990.
- RIBEIRO, R.V.; SANTOS, M.G. dos; SOUZA, G.M.; MACHADO, E.C.; OLIVEIRA, R.F. de; ANGELOCCI, L.R.; PIMENTEL, C. Environmental effects on photosynthetic capacity of bean genotypes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.7, p.615-623, 2004.
- ROHÁČEK, K. Chlorophyll fluorescence parameters: the definition, photosynthetic meaning, and mutual relationship. **Photosynthetica**, Prague, v.40, n.1, p.13-29, 2002.
- RUNGE, M. Physiology and ecology of nitrogen nutrition. In: Lange, O.L. (Ed.). **Physiological plant ecology**. Berlin: Springer Verlag, 1983. v.3, p.163-200.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. p.819.