

**Fluorescência da clorofila *a* em cana-de-açúcar inoculada com fungos micorrízicos arbusculares sob aplicação de fósforo**

Martios Ecco<sup>1</sup>, Etenaldo Felipe Santiago<sup>2</sup>, Alfredo Richart<sup>1</sup>, Paulo Ricardo Lima<sup>3</sup>, Augustinho Borsoi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Católica do Paraná, PUCPR, campus Toledo

<sup>2</sup>Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, UEMS, campus Dourados.

<sup>3</sup>Faculdade Assis Gurgacz, FAG, campus Cascavel.

Email autor correspondente: [ecco.martios@pucpr.br](mailto:ecco.martios@pucpr.br)

Artigo enviado em 04/01/2017, aceito em 30/03/2017.

**Resumo:** O domínio de técnicas para detectar as alterações metabólicas nos vegetais é fundamental para se interpretar as respostas fisiológicas de plantas em interação com microrganismos, possibilitando no uso racional de fertilizantes. Neste sentido, objetivou-se avaliar a resposta da cana-de-açúcar, inoculada com fungo micorrízico arbuscular (FMA) e adubação fosfatada por meio da fluorescência da clorofila *a*. O experimento foi realizado em delineamento experimental de blocos ao acaso, com os tratamentos arranjados em esquema fatorial 5 x 3, correspondendo as doses de fósforo (P) (0, 50, 100, 200 e 400 mg kg<sup>-1</sup> de P), inoculação com FMA (*Gigaspora margarita*, nativo e ausência de inoculação), com quatro repetições. Foi mensurada a fluorescência aos 60 dias após plantio com uso de fluorímetro Handy PEA Hansatech. Houve diferenças significativas para interação entre as doses de P x inoculação dos microtoletes de cana-de-açúcar com FMAs para as variáveis Fv/Fm e IP. A inoculação com FMA *Gigaspora margarita* (GM) e quando não houve a inoculação (SI) apresentaram as maiores eficiências fotoquímicas na maior dosagem e, a interação com FMA nativo parece influenciar negativamente a Fv/Fm de acordo com o aumento das doses de P, porém, a eficiência quântica não demonstrou ser uma ferramenta segura para se avaliar as respostas de cana-de-açúcar às diferentes doses de P, podendo inferir que a simbiose dos FMAs com as plantas de cana-de-açúcar não é favorecida pelas doses de P.

**Palavras-chave:** Colonização radicular, *Gigaspora margarita*, *Saccharum* spp.

**Chlorophyll *a* fluorescence in sugarcane inoculated with mycorrhizal fungi under phosphorus application**

**Abstract:** The domain of techniques to detect the metabolic changes in plants is fundamental to interpret the physiological responses of plants interacting with microorganisms, making possible the rational use of fertilizers. Therefore, the mastery and improvement of techniques that are fast and efficient to detect the metabolic alterations in the vegetables are important for the correct diagnosis. In this sense, the objective was to evaluate the sugarcane response, inoculated with arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) and phosphate fertilization by means of chlorophyll *a* fluorescence. The experiment was carried out in a randomized complete block design with treatments arranged in a 5 x 3 factorial scheme, corresponding to phosphorus (P) doses (0, 50, 100, 200 and 400 mg kg<sup>-1</sup> of P), inoculation With FMA (*Gigaspora margarita*, native and absence of inoculation), with four replicates. Fluorescence was measured at 60 days after planting using Hansatech Handy PEA fluorimeter. There were significant differences for interaction between the doses of P x inoculation of the sugarcane microtoletes with FMAs for the Fv/Fm and IP variables. The inoculation with FMA *Gigaspora margarita* (GM) and when there was no inoculation (SI) presented the highest photochemical efficiencies at the highest dosage, and the interaction with native AMF seems to negatively influence Fv/Fm according to the increase of the doses of P, however, quantum efficiency has not been shown to be a reliable tool for assessing sugarcane responses at different P rates, and may infer that the symbiosis of FMAs with sugarcane plants is not favored by the doses of P.

**Keywords:** Root colonization, *Gigaspora margarita*, *Saccharum* spp.

### Introdução

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, gerando milhares de empregos, destacando-se desta forma por constituir-se em fonte de energia natural, renovável, e de menor impacto ambiental quando estabelecida em bases sustentáveis de produção (DEPEC – BRADESCO, 2016).

O nutriente fósforo (P) nas plantas, está diretamente relacionado a formação de proteínas, ao processo de divisão celular, fotossíntese, armazenamento de energia, desdobramento de açúcares, respiração e fornecimento de energia a partir do ATP e ainda formação de sacarose, este último de maior relevância para cultura da cana-de-açúcar (KORNDÖRFER e MELO, 2009) e ainda, pode favorecer o enraizamento, perfilhamento e absorção dos demais nutrientes (CAIONE et al., 2011).

Na região do Cerrado brasileiro, a concentração de P na solução do solo é muito baixa em virtude da alta capacidade de fixação deste nutriente pelas argilas e pelos óxidos de ferro e alumínio. Com isso, os custos de produção têm-se aumentado devido às grandes quantidades de fertilizantes fosfatados utilizados para atenuar esse problema (REIS et al., 2008).

Preconizando a busca por técnicas que aumentem a eficiência na absorção de P pela planta, pesquisas estão sendo realizadas visando contribuir com a utilização racional dos fertilizantes minerais, para isto, tem-se estudado o uso de fungo micorrízico arbuscular (FMA) na cultura da cana-de-açúcar. Quando se avalia os benefícios de FMA nesta cultura, verifica-se sua habilidade em estimular o crescimento das plantas, principalmente por meio do incremento na absorção de nutrientes, em especial o P (BERBARA et

al., 2006), que por ser um macronutriente presente em baixas concentrações em solos intemperizados, ainda apresenta pouca mobilidade. Com isso, os FMAs assumem papel determinante na sobrevivência de diversas espécies vegetais, incapazes de mobilizar esse macronutriente, contribuindo assim, para a manutenção da atividade fotossintética (GAMPER et al., 2004).

Estima-se que até 90% da matéria seca total de um vegetal resultem diretamente do processo fotossintético (JIAO et al., 2003), constituindo, portanto, a base da produção de uma cultura. A absorção e uso da energia luminosa pelos vegetais podem ser estimados por meio da análise da fluorescência da clorofila. De acordo com Baker e Rosenqvist (2004), mudanças na emissão da fluorescência da clorofila são indicativos de alterações na atividade fotossintética.

A influência do P na fase fotoquímica da fotossíntese não é relatada na literatura, mas sua assimilação depende de ferredoxina reduzida (Frd), o que poderia resultar em alterações no sinal da fluorescência (VIEIRA et al., 2010). A fluorescência da clorofila pode ser utilizada para estimar, a eficiência do transporte de elétrons através do fotossistema II (FSII) sendo a eficiência de operação do FSII relacionada à assimilação de CO<sub>2</sub>. Estressores ou alterações do meio podem levar a alterações nas taxas de fluorescência da clorofila afetando o desempenho fotossintético das plantas (BAKER e ROSENQVIST, 2004).

O incremento da absorção de P em plantas colonizadas por FMAs pode proporcionar aumento no crescimento, na atividade fotossintética, na taxa de transferência de carboidratos para as raízes e no seu efluxo ao apoplasto, em

direção ao dreno imposto pelo fungo micorrízico (BUCKING e SHACHAR-HILL, 2005). Mohammad et al. (2004) afirmam que esse aumento da absorção de P, ocorre devido os FMAs reduzirem o pH na rizosfera, ocasionando maior solubilidade de P no solo.

Diante do exposto, este trabalho objetivou avaliar a resposta da variedade de cana-de-açúcar RB 835054, na fase de estabelecimento, inoculada com fungo micorrízico arbuscular (FMA) e adubação fosfatada por meio da fluorescência da clorofila *a*.

### Material e Métodos

O trabalho foi realizado em casa de vegetação coberto por plástico transparente, na Unidade Universitária de Aquidauana (UEMS), localizada no município de Aquidauana/MS. Geograficamente, a região localiza-se entre as coordenadas 20°27'20" de latitude S e 55°40'17" de longitude W e altitude média de 174 metros. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é Tropical Quente - Úmido (Aw) com precipitações pluviométricas anuais entre 1200 e 1300 mm e temperatura média anual de 26 °C, sendo rara a ocorrência de geadas.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, em esquema fatorial 5 x 3, sendo as fontes de variação, as doses de P (0, 50, 100, 200 e 400 mg kg<sup>-1</sup> de P), inoculação dos microtoletes de cana-de-açúcar com FMAs (SI - ausência de inoculação, GM - inoculação com *Gigaspora margarita*, N - inoculação com fungo nativo), com quatro repetições.

O substrato utilizado no experimento para o preenchimento dos recipientes (vasos plásticos) foi

constituído pela mistura 1:1 (v/v) de vermiculita com o horizonte sub-superficial de um solo Argissolo Vermelho distrófico (EMBRAPA, 2006), a qual foi secada ao ar, peneirada em malha de 4 mm. Em seguida, realizou-se a coleta de uma amostra para análise química, apresentando os seguintes resultados: pH em H<sub>2</sub>O = 4,8; matéria orgânica = 13,0 g kg<sup>-1</sup>; P = 3,5 mg kg<sup>-1</sup>; cálcio, magnésio, potássio, acidez trocável e potencial, respectivamente, 1,0; 0,7; 0,16; 0,4 e 2,7 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>. Foi realizada a calagem de acordo com a análise de solo, para elevar a saturação por bases para 60%.

Após a aplicação do calcário, os vasos com capacidade de 5 L foram mantidos próximos à umidade da capacidade de campo por um período de 20 dias, para que ocorresse a reação do calcário com o substrato para neutralização da acidez. Decorrido este período, procedeu-se a aplicação das doses de P (0, 50, 100, 200, 400 mg kg<sup>-1</sup>) utilizando como fonte o KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Em função das doses crescentes de P, fez-se necessário equilibrar as doses de potássio, utilizando-se como fonte o KCl (60% de K<sub>2</sub>O). De forma semelhante à calagem, após a aplicação das doses de P, os vasos foram mantidos em umidade próxima à capacidade de campo por um período de 20 dias.

Decorrido este período, foi realizada a mistura do solo com a vermiculita e o substrato obtido, em seguida, foi esterilizado em autoclave à 121 °C, por uma hora. O substrato esterilizado foi transferido para os seus respectivos vasos e na sequência, procedeu-se a inoculação com FMAs por uma mistura de solo contendo raízes de *Brachiaria* cv. Xaraés colonizadas com os FMAs *Gigaspora margarita* ou nativo, contendo aproximadamente 110 esporos por

recipiente. A *Brachiaria* cv. Xaraés foi utilizada como planta hospedeira dos FMAs. Os vasos contendo a *Brachiaria* cv. Xaraés antes de ser realizada a mistura do substrato, foram mantidos em casa de vegetação por um período de quatro meses para a multiplicação dos FMAs.

A variedade de cana-de-açúcar utilizada foi a RB835054, coletada na Usina de Açúcar e Álcool (Louis Dreyfus Commodities-LDC), situada no Município de Maracajú - MS. Posteriormente, estes colmos inteiros foram seccionados em microtoletes (uma gema) para seu plantio nos vasos com as doses de P e com e sem a inoculação com FMAs. Quanto a irrigação dos vasos, a umidade foi mantida próximo a capacidade de campo.

Com relação as avaliações, 60 dias após o plantio (DAP) foram determinados os níveis do sinal da cinética de emissão de fluorescência com uso de fluorímetro Handy PEA Hansatech. As leituras foram tomadas em folhas adaptadas ao escuro com auxílio de "leaf clips", colocados na região mediana da primeira folha do ápice para a base com bainha visível de cada planta, sendo realizada quatro amostragens por repetição para posteriormente obter a média das leituras. Após 30 minutos de adaptação da folha ao escuro, emitiu-se um pulso de 1.500 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> durante 1s, na face abaxial da folha.

As variáveis observadas nas medições da fluorescência da clorofila *a* foram fluorescência inicial, basal ou mínima (F<sub>o</sub>) na qual é a fluorescência quando todos os centros de reação estão abertos, fluorescência máxima (F<sub>m</sub>) caracterizada pela fluorescência quando todos os centros de reação estão fechados, fluorescência variável (F<sub>v</sub>) determinada pelo incremento de fluorescência de (F<sub>o</sub>) até (F<sub>m</sub>), eficiência ou rendimento

quântico máximo do FSII (Fv/Fm) e, índice de desempenho ou performance (IP) (STRASSER et al., 2004).

Os dados obtidos foram submetidos às análises de variância pelo teste F a 5% de probabilidade. Quando significativos, as médias foram comparadas entre pelo teste de Tukey para inoculação. Para as doses de P, os dados foram submetidos a análise de regressão, utilizando-se o software SISVAR (FERREIRA, 2008).

### Resultados e Discussão

À análise estatística revelou que ocorreram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) para interação entre as doses de P x inoculação dos microtoletes de cana-de-açúcar com FMAs para as variáveis Fv/Fm e IP, como é possível verificar na Tabela 1. No entanto, ocorreu efeito isolado das doses de P para as variáveis Fm e Fv, todavia, não foram observadas respostas significativas ( $p > 0,05$ ) de nenhuma fonte de variação sobre a variável  $F_o$  (Tabela 1). Estes resultados podem ser atribuídos ao papel que o P desempenha na planta, pois, este nutriente é constituinte estrutural em diversos componentes e produtos da atividade dos fotossistemas, como é o caso

reduzidor NADP, o componente de dissipação inicial ( $F_o$ ) parece ser pouco influenciado pelas doses de P (BOWN et al., 2009), mas responde a outros fatores como por exemplo, as concentrações de  $CO_2$ . Tal fato pode ser explicado, uma vez que a emissão de fluorescência inicial ocorre dentro do estágio rápido da fluorescência, representando parte da energia dissipada de maneira não fotoquímica pelas moléculas de clorofila *a* do complexo antena, este processo ocorre antes dos elétrons migrarem para o centro de reação P680 (FSII) (VIEIRA et al., 2010), justificando desta forma a baixa resposta encontrada neste trabalho.

Para a variável Fm, ocorreu efeito significativo ( $p < 0,05$ ) somente das doses de P, a qual, diminuiu com o aumento das doses de P. A Fm mínima foi de 1093,58 observada na dose de 261,2 mg  $kg^{-1}$  de P (Figura 1). O aumento das doses de P parece não ser eficiente para alterar a Fm, considerando que somente ocorreu um leve aumento do seu valor com a maior dose (400 mg  $kg^{-1}$  de P), ao contrário das dosagens inferiores (50, 100 e 200 mg  $kg^{-1}$  de P) no qual acarretou em redução para esta variável em comparação com a testemunha sem aplicação de P.

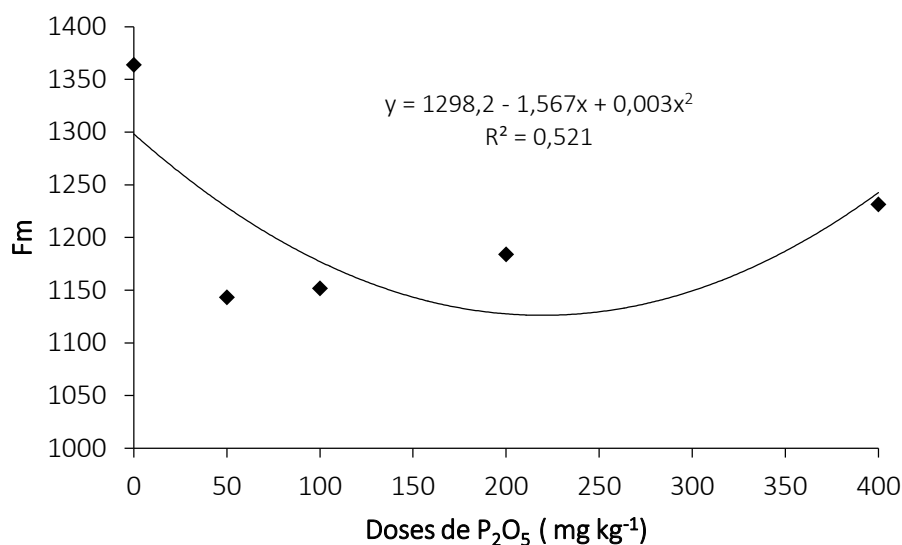
**Tabela 1.** Análise de variância para fluorescência inicial ( $F_o$ ), fluorescência máxima (Fm), fluorescência variável (Fv), eficiência fotoquímica (Fv/Fm) e índice de performance (IP).

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios				
		$F_o$	Fm	Fv	Fv/Fm	IP
Doses de P (D)	4	1770,4 <sup>ns</sup>	97591,1*	75958,3*	0,001188*	18,68*
Inoculação FMAs	2	579,1 <sup>ns</sup>	288,8 <sup>ns</sup>	733,7 <sup>ns</sup>	0,000582 <sup>ns</sup>	1,56 <sup>ns</sup>
D x FMAs	8	641,9 <sup>ns</sup>	22165,9 <sup>ns</sup>	18916,3 <sup>ns</sup>	0,000659*	6,76*
Resíduo	42	1329,3	19380,9	12152,9	0,000288	0,967
CV (%)		12,08	11,46	12,07	2,26	24,16

\* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F; ns – Não significativo.

De maneira geral, espera-se que condições favoráveis elevem a  $F_m$ , mas seu aumento deve vir acompanhado da redução de  $F_o$ , o que promoveria aumento da fluorescência variável ( $F_v$ ) na relação  $F_m/F_v$ . A  $F_m$  representa a energia máxima dissipada pelos elétrons que, ejetados dos seus átomos, podem alcançar o extintor  $Q_a$  (Quinona, receptora primária estável de elétrons do FSII), 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 (VIEIRA et al., 2010; BAKER, 2008). Dados sobre os efeitos da elevação de doses de P sobre as variáveis de fluorescência são escassos, pouca ênfase é dada aos possíveis efeitos de altas concentrações de P, a despeito das respostas positivas observadas em plantas cultivadas (SILVA et al., 2010).



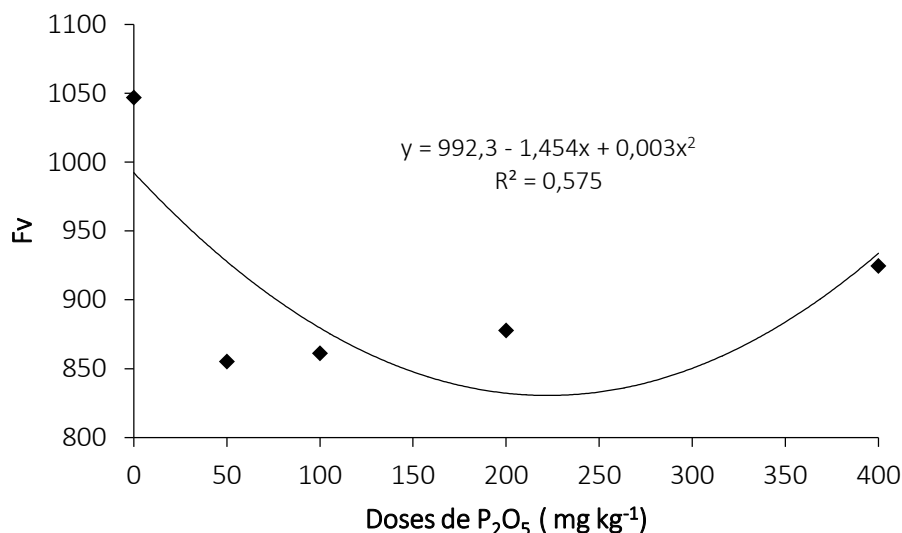
**Figura 1.** Fluorescência máxima ( $F_m$ ) em variedades de cana-de-açúcar sob inoculação por FMAs cultivadas sob diferentes doses de P ( $mg\ kg^{-1}$ ).

Resultados obtidos por Vieira et al. (2010) com adubação nitrogenada em abacaxizeiro mostraram que ocorreram pequenas reduções de  $F_m$  em maiores concentrações de nitrogênio (N). De acordo com Lu e Zhang (2000) estudando a cultura do milho, relatam que o N reduz a  $F_m$  de folhas adaptadas ao escuro e, em seguida, submetidas à flash de luz de alta intensidade, entretanto, isto não deve ser um problema de dano no centro de reação do FSII. Isso pode estar associado ao metabolismo da cultura, pois só ocorre quando a energia de excitação

excede a capacidade de dissipação (BOWN, 2009).

Comportamento semelhante foi observado para a variável fluorescência variável ( $F_v$ ) sob efeito das doses de P, na qual, com a dose de  $242\ mg\ kg^{-1}$  de P, conforme o modelo estatístico da equação de regressão acarretou em 816,13 de  $F_v$ , menor valor para a variável (Figura 2). 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<sub>2</sub> na fase bioquímica da fotossíntese (BAKER, 2008).



**Figura 2.** Fluorescência variável (Fv) em variedades de cana-de-açúcar sob inoculação por FMAs cultivadas sob diferentes doses de P (mg kg<sup>-1</sup>).

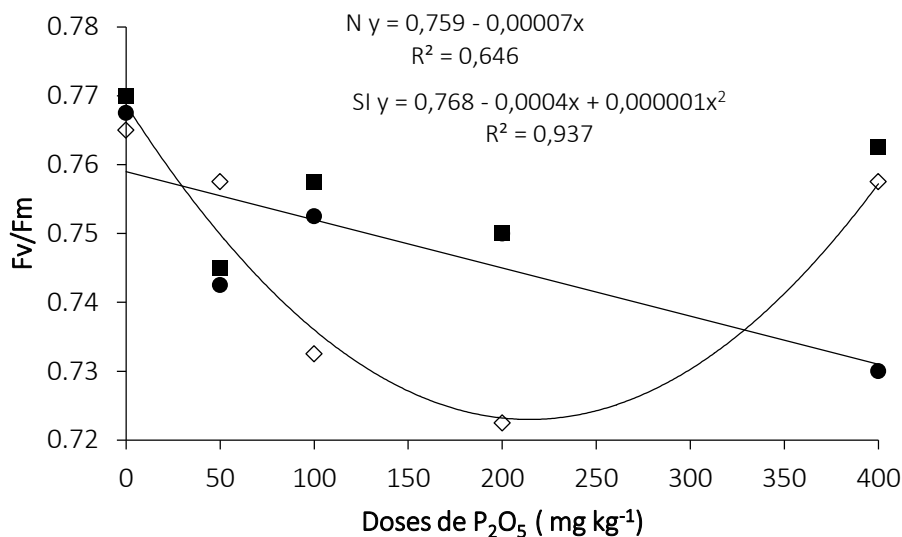
As fontes de P podem não influenciar o crescimento inicial de plantas de cana de açúcar, mas proporcionam aumentos na produtividade (SANTOS et al., 2009). Diferenças das características de cultivares de cana de açúcar são mais evidentes pela falta de nutrientes ou por outros fatores promotores de estresse, sobretudo para variáveis de fluorescência da clorofila (ECCO et al., 2013).

Pode-se observar nas figuras 1 e 2 e na tabela 1, que não houve interação das doses de P com a inoculação de FMAs nos microtoletes de cana-de-açúcar. Possivelmente o que afetou a infecção dos microtoletes de cana pode ter sido os altos teores de P adicionados no substrato. Em estudo conduzido por Cardoso Filho et al. (1999), observaram que entre os vários fatores que podem interferir na simbiose, o mais relevante é o substrato, principalmente no que diz respeito ao nível de P disponível. A

infecção e a eficiência do fungo micorrízico variam em função do nível de fertilidade do substrato, o que sempre deve ser considerado nos programas de seleção desses fungos.

Quanto à eficiência quântica fotoquímica do FSII (Fv/Fm), nas folhas adaptadas ao escuro, verificou-se interação entre doses de P, e a inoculação dos microtoletes pelos FMAs, havendo ajuste polinomial quadrático para as interações das doses de P, para o tratamento SI e ajuste linear na interação das doses de P com o tratamento N (Figura 3). Os valores de Fv/Fm situaram-se entre 0,71 e 0,78, inferiores a valores encontrados para plantas C4. Observou-se que a SI apresentou redução na eficiência fotoquímica na dose 200 mg kg<sup>-1</sup> de P obtendo um valor de eficiência fotoquímica de 0,728. Para o tratamento inoculado com FMA nativo, eficiência fotossintética sofreu decréscimo linear até a dose 400 mg kg<sup>-1</sup>.

ECCO et al.



**Figura 3.** Eficiência fotoquímica (Fv/Fm) em variedades de cana-de-açúcar sob inoculação por FMAs cultivadas sob diferentes doses de P (mg kg<sup>-1</sup>).

Conforme a Tabela 2, é possível observar o comportamento das médias de Fv/Fm de plantas submetidas a inoculação por FMAs de acordo com cada dosagem de P em que a maior dosagem foi a única em que proporcionou diferenças significativas ( $p < 0,05$ ), onde as plantas inoculadas com FMA nativo, apresentou a

menor média de eficiência fotoquímica, bem como apresentado na Figura 3. A inoculação com FMA *Gigaspora margarita* (GM) e quando não houve a inoculação (SI) apresentaram as maiores eficiências fotoquímicas na maior dosagem de P.

**Tabela 2.** Comparação de médias de Fv/Fm de plantas de cana de açúcar submetidas a inoculação com FMAs e doses de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Aquidauana – MS

Inoculação por FMAs	Doses de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg kg <sup>-1</sup> )				
	0	50	100	200	400
<b>Sem</b>	0,765 a	0,757 a	0,732 a	0,722 a	0,757 ab
<b>Inoculação <i>Gigaspora margarita</i></b>	0,770 a	0,745 a	0,757 a	0,750 a	0,762 a
<b>Nativo</b>	0,767 a	0,742 a	0,752 a	0,750 a	0,730 b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

A eficiência quântica fotoquímica do FSII é normalmente descrita como uma importante característica para se avaliar os efeitos deletérios promovidos por

fatores de estresse (MATHUR et al., 2011). No entanto, Hogh-Jensen et al. (2002) estudando plantas de *Trifolium repens* sob deficiência de P não encontraram



alterações significativas para esta característica.

Aparentemente, a eficiência quântica não demonstrou ser uma ferramenta segura para se avaliar as respostas de cana-de-açúcar às diferentes doses de P. Pinto e Aguilar (2011) analisando o efeito do Fulland® (Fertilizante mineral misto para aplicação foliar) sobre as variáveis de fluorescência, observaram que independente do genótipo de cacau, a aplicação de Fulland® aumentou a eficiência fotoquímica da planta (Fv/Fm), indicando que sua aplicação faz com que aumente a quantidade de energia aproveitada pela planta para realização dos processos fotoquímicos, como fixação de CO<sub>2</sub> e redução de NADPH. O aumento de Fv/Fm pode ser justificado pelo fato do Fulland® conter em sua formulação 268 g L<sup>-1</sup> de P. O P participa de vários processos metabólicos dentre eles o fotossintético, pois está envolvido na produção e consumo da molécula de ATP, NADPH e da ativação de algumas enzimas essenciais do processo fotossintético, tais como a ribulose-1,5-bisfosfato, carboxilase/oxigenase, frutose-1,6-bisfosfatase e a sedoheptulose-1,7-bisfosfatase (SHUBHRA et al., 2004). Avaliando o fornecimento de N e de P em clones de *Pinus radiata*, Bonw et al. (2009), verificaram significativos aumentos de eficiência fotoquímica (Fv/Fm) com a adição destes dois elementos individualmente ou em combinação na primeira aplicação.

Neste trabalho, a interação com FMA nativo parece influenciar negativamente a Fv/Fm de acordo com o aumento das doses de P. Embora o papel dos FMAs e bactérias endossimbióticas na otimização da absorção de nutrientes como o fosfato está bem estabelecida da literatura (BUCKING e SHACHAR-HILL, 2005), seus

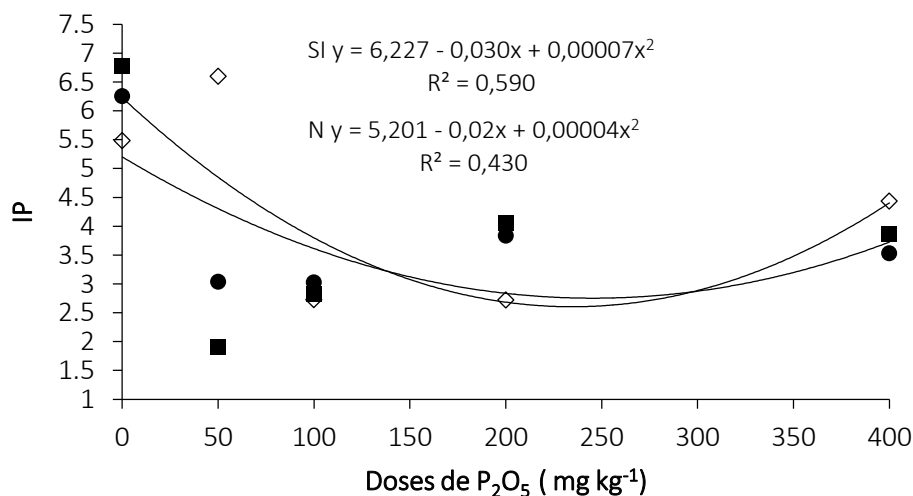
efeitos sobre aspectos funcionais do FSII podem não ser diretos, mas relacionados a mecanismos de intensificação do fluxo eletrônico, por exemplo, por aumento na demanda de agentes redutores, ou intensificação do estado ativado da rubisco. Investigações sobre as dissipações não fotoquímicas bem como do fluxo de elétrons nas diferentes condições testadas podem ser relevantes para o entendimento das respostas observadas. Resultados diferentes deste trabalho foram verificados por Gomes et al. (2003), avaliando o efeito da supressão e do ressuprimento do fosfato (Pi) sobre a cinética de emissão de fluorescência em plantas de *Medicago sativa* inoculadas com *Sinorhizobium meliloti* em diferentes estádios de desenvolvimento, onde observaram que não ocorreram mudanças significativas após o período de supressão de Pi para alterar a razão Fv/Fm. Da mesma forma, Jaquetti (2012) avaliando a inoculação de seis estirpes de rizóbio (832, 835, 836, 841, 842, 847), da coleção de rizóbios do LMS-Inpa na espécie de *Inga edulis* e em mais duas espécies arbóreas sem inoculação submetidas a adubação mineral e a adubação verde, observaram que a espécie inoculada apresentou os menores valores de Fv/Fm, porém apresentou uma boa eficiência fotoquímica quando submetida as diferentes adubações, indicando melhores condições dos tratamentos de adubação, para a captura e utilização da energia. Portanto, a significativa diminuição nos valores de Fv/Fm bem como nos valores de IP indicam efeito de fotoinibição e tais mudanças representam perda de eficiência fotoquímica pelas plantas (THACH et al., 2007).

A variável da fluorescência da clorofila *a* que fornece informações quantitativas sobre o estado da planta e

sua vitalidade, de acordo com o princípio da equação de Nernst é o IP. Esta variável que é um índice de desempenho tem sido considerada mais sensível para a detecção e quantificação de estresse em plantas do que a resposta da eficiência máxima do FSII (Fv/Fm), ou seja, mais consistência para interpretação dos resultados. Isto porque, esta variável relaciona a eficiência de absorção, captura e transferência de energia de excitação pelo FSII proporcionando uma visão maior do grau de efeito do ambiente estressante (GONÇALVES e SANTOS JR, 2005).

Quanto ao índice de performance (IP), foi verificada interação entre as doses de P e a inoculação com os FMAs em microtoletes de cana de açúcar. Os dados foram ajustados a um polinomial quadrático para as interações das doses de P com o tratamento sem inoculação (SI) e com a inoculação com o FMA nativo (N) (Figura 4). Observou-se que os tratamentos de inoculação com FMA apresentaram comportamento semelhante em relação as dosagens

quando inoculadas ou não por FMAs. O tratamento não inoculado (SI) apresentou o menor índice de performance (IP) na dose de 214,3 mg kg<sup>-1</sup> de P (3,01), seguido de aumento na dose 400 mg kg<sup>-1</sup> de P. A planta de cana de açúcar em simbiose com o FMA nativo, apresentou o menor índice de performance (IP) na dose de 250 mg kg<sup>-1</sup> (2,7) seguido também de um aumento na dose 400 mg kg<sup>-1</sup> de P. As doses de 214 e 250 mg kg<sup>-1</sup> de P foram que proporcionaram os menores valores de IP para as plantas sem inoculação e inoculadas com FMA nativo, respectivamente (3,01 e 2,7). No estudo de Souza et al. (2012) em plantas jovens de *Inga edulis* submetidas a diferentes fontes de nitrogênio, não foi verificada diferença significativa para a variável IP entre os tratamentos. Estes autores constataram que, devido à condição de luz moderada não ter modificado o comportamento quanto ao processamento de luz do FSII e, pelo fato de todos os tratamentos terem sofrido aplicações nutricionais (micronutrientes).



**Figura 4.** Índice de performance (IP) em variedades de cana-de-açúcar sob inoculação por FMAs cultivadas sob diferentes doses de P (mg kg<sup>-1</sup>).

Conforme a tabela 3 e figura 4, é possível observar o comportamento das médias de IP de plantas submetidas a inoculação por FMAs de acordo com cada dosagem de  $P_2O_5$  em que a dosagem de 50  $mg\ kg^{-1}$  de P foi a única em que ocorreu diferença significativa ( $p < 0,05$ ), onde as plantas inoculadas com FMAs GM e N, apresentaram as menores médias de IP, assim como na figura 4. De acordo com o trabalho de Jaquetti (2012), avaliando espécies de *Inga edules* inoculadas com estipes de rizóbio, *S. amazonicum* e *D. odorata* houve maior variação dos valores de IP entre os tratamentos com adubação

do que a razão  $F_v/F_m$ . Os maiores valores de IP foram encontrados na espécie *S. amazonicum* (não inoculada) quando empregado à adubação verde juntamente com a mineral. O IP é um indicador da vitalidade da planta, pois combina as relações de centros de reação por absorção (RC/ABS) e fluxo de transporte de elétrons. Para Gonçalves e Santos Jr (2005), reduções em IP podem indicar menor eficiência na transferência de energia no FSII como resultado do decréscimo na densidade de centros de reação.

**Tabela 3.** Comparação de médias de IP de plantas de cana de açúcar submetidas a inoculação com FMAs e doses de  $P_2O_5$ , Aquidauana - MS

Inoculação por FMAs	Doses de $P_2O_5$ ( $mg\ kg^{-1}$ )				
	0	50	100	200	400
<b>Sem</b>	5,482 a	6,595 a	2,727 a	2,722 a	4,432 a
<b>Inoculação <i>Gigaspora margarita</i></b>	6,770 a	1,905 b	2,832 a	4,055 a	3,855 a
<b>Nativo</b>	6,255 a	3,035 b	3,025 a	3,832 a	3,532 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Avaliando plantas de arroz com sementes microbiolizadas por bactérias; *Herbaspirillum seropedicae*, *Pseudomonas synxatha* e cianobactéria *Anabaena azolla* sem aplicação de adubo e com aplicação de solução nutritiva completa, Silva et al. (2009) verificaram um aumento quanto ao índice de performance (IP) referente as inoculações por cianobactéria *Anabaena azoll*, porém, observaram uma redução quando comparado com o tratamento com solução nutritiva completa.

Conforme Cardoso Filho et al. (1999), a dependência de algumas plantas por FMAs é inversamente proporcional à disponibilidade de P, e esse pode ser considerado o fator que mais afeta os

FMAs. Portanto, convém ressaltar que a eficiência da simbiose é altamente dependente de interações do genótipo do fungo e o da planta e destes com o substrato. Melloni et al. (2000) relata que muitos autores descreveram hipóteses do efeito negativo das doses de P na percentagem de colonização radicular de FMAs, o que pode ter contribuído para todas as variáveis apresentarem efeito significativo somente quando as variedades não haviam sido inoculadas. Algumas destas hipóteses podem ser descritas como; redução da exsudação radicular pela interferência no desenvolvimento micelial; restrição da infecção micorrízica pela redução da

permeabilidade da membrana das células das raízes; variação do fluxo de carbono do hospedeiro, dentre outras.

### Conclusões

A eficiência fotossintética (Fv/Fm) é afetada negativamente quando os microtoletes de cana-de-açúcar foram inoculados por fungos micorrízicos arbusculares nativo de acordo com o aumento da dose de fósforo.

A simbiose dos FMAs com as plantas de cana de açúcar não é favorecida pelas doses de P.

O índice de performance IP, foi um indicador mais eficiente para avaliação dos efeitos da interação entre as inoculações e as doses de fósforo;

A dosagem de 50 mg kg<sup>-1</sup> de P em microtoletes não inoculados apresentaram as maiores médias de IP.

### Referências

- BAKER, N.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, v.55, p.1607-1621, 2004.
- BAKER, N. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. **Annual Review of Plant Biology**, v.59, n.1, p.89-113, 2008.
- BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A.; FONSECA, H. M. A. C. **Fungos Micorrízicos Arbusculares: Muito Além da Nutrição**. Nutrição Mineral de Plantas. Ed. Fernandes: Viçosa, 2006. 432p.
- BOWN, H. E.; MASON, E. G.; CLINTON, P. W.; WATT, M. S. Chlorophyll fluorescence response of *Pinus radiata* clones to nitrogen and phosphorus supply. **Ciencia e Investigación Agraria**, v. 36, n.3, p.451-464, 2009.
- BUCKING, H.; SHACHAR-HILL, Y. Phosphate uptake, transport and transfer by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is stimulated by increased carbohydrate availability. **New Phytologist**, v.165, n.3, p.899-911, 2005.
- CAIONE, G.; TEIXEIRA, M. T. R.; LANGE, A.; SILVA, A. F. da; FERNANDES, F. M. Modos de aplicação e doses de fósforo em cana-de-açúcar forrageira cultivada em Latossolo vermelho amarelo. **Revista de Ciências Agroambientais**, Alta Floresta, v.9, n.1, p.1-11, 2011.
- CARDOSO-FILHO, J.A.; PACOVSKI, R. S.; CARDOSO, E.J.B.N. Growth and metabolic activity of the extrametrical mycelium of endomycorrhizal maize plants. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, n. 23, p. 807-815, 1999.
- DEPEC – BRADESCO - Departamento de Pesquisas e Estudos Econômicos. **Açúcar e etanol**. 2016. Disponível em: [https://www.economiaemdia.com.br/EconomiaEmDia/pdf/infset\\_acucar\\_etanol.pdf](https://www.economiaemdia.com.br/EconomiaEmDia/pdf/infset_acucar_etanol.pdf) Acesso em 24-01-2017
- ECCO, M.; SANTIAGO, E. F.; LIMA, P. R. Chlorophyll *a* fluorescence in two varieties of sugar cane subjected to aluminum and water stress. **African Journal of Agricultural Research**, v.8, n.39, p. 4941- 4948, 2013.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema**

**Brasileiro de Classificação de solos. 2.**

Ed. Brasília, 2006. 306 p.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Científica Symposium**, v.6, n.2, p.36-41, 2008.

GAMPER, H.; PETER, M.; JANSA, J.; LUSCHER, A.; HARTWIG, U. A.; LEUCHTMANN, A. Arbuscular mycorrhizal fungi benefit from 7 years of free air CO<sub>2</sub> enrichment in well fertilized grass and legume monocultures. **Global Change Biology**, v.10, n.2, p. 189-199, 2004.

GOMES, F. T.; PEREIRA, G. D.; BORGES, A. C.; MOSQUIM, P. R. Fotossíntese em alfafa (*Medicago sativa* L.) sob supressão e ressuprimento de fosfato. Santa Maria, **Ciência Rural**, v.33, n.5, p.21- 828, 2003.

GONÇALVES, J. F. C.; SANTOS JR, U. M. Utilization of the chlorophyll a fluorescence technique as a tool for selecting tolerant species to environments of high irradiance. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v.17, n.3, p.307-313, 2005.

HOGH-JENSEN, H.; SCHJOERRING, J. K.; SOUSSANA, J. F. The influence of phosphorus deficiency on growth and nitrogen fixation of white clover plants. **Annals of Botany** 90: 745-753, 2002.

JAQUETTI, R. K. **Crescimento inicial e respostas fotossintéticas de três espécies leguminosas arbóreas submetidas à adubação verde e química em um plantio florestal na Amazônia.** 2012. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Florestas Tropicais), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus.

JIAO, D.; JI, B.; LI, X. Characteristics of chlorophyll fluorescence and membrane-lipid peroxidation during senescence of flag leaf in different cultivars of rice. **Photosynthetica**, v.41. n.1, p.33-41, 2003.

KORNDÖRFER, G. H. e MELO, S. P. de. Fontes de fósforo (fluida ou sólida) na produtividade agrícola e industrial da cana-de-açúcar. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 92-97, 2009.

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, n.2, p.135-143, 2000.

MATHUR, S.; JAJOO, A.; MEHTA, P.; BHARTI, S. Analysis of elevated temperature-induced inhibition of photosystem II using chlorophyll a fluorescence induction kinetics in wheat leaves (*Triticum aestivum*). **Plant Biology**, v.13, p.1-6, 2011.

MELLONI, R.; NOGUEIRA, M. A.; FREIRE, V. F.; CARDOSO, E. J. B. N. Fósforo adicionado e fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e nutrição mineral de limoeiro-cravo [*Citrus limonia* (L.) Osbeck]<sup>(1)</sup>. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Santa Maria, v.24 n.1 p. 767-775, 2000.

MOHAMMAD, A.; MITRA, B.; KHAN, A. G. Effects of sheared-root inoculum of *Glomus intraradices* on wheat grown at different phosphorus levels in the field. **Agriculture Ecosystems & Environment**, v.103, n.1 p.245-249, 2004.

PINTO, D. G.; AGUILAR, M. A. G. **Eficiência do Fulland® no controle da vassoura-de-bruxa e alterações fisiológicas verificadas após sua aplicação em cacau (*Theobroma cacao* L.)**. Relatório técnico científico, Linhares - ES, 2011. 34p.

REIS, E. F. dos; CARNEIRO, M. A. C.; SAGGIN-JR, O. J.; ROTTA, D. A.; SOUSA, M. Y. Absorção de fósforo em doze genótipos de milho inoculados com fungo micorrízico arbuscular em solo de cerrado. **Ciência Rural**, v.38, n.9, p. 2441-2447, 2008.

SANTOS, V. R.; MOURA FILHO, G.; ALBUQUERQUE, A. W.; COSTA, J. P. V.; SANTOS, C. G.; SANTOS, A. C. I. Crescimento e produtividade agrícola de cana-de-açúcar em diferentes fontes de fósforo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v.13, n.4, p.389-396, 2009.

SHUBHRA, D. J.; GOSWAMI, C.L.; MUNJAL, R. Influence of phosphorus application on water relations, biochemical parameters and gum content in cluster bean under water deficit. **Biologia Plantarum**, v.48, n.3, p.445-448, 2004.

SILVA, G. A.; SIQUEIRA, J. O.; STÜRMER, S. L. Eficiência de fungos micorrízicos arbusculares isolados de solos sob diferentes sistemas de uso na região do Alto Solimões na Amazônia. **Acta Amazonica**, v.39, n.3, p. 477-488, 2009.

SILVA, L.; MARCHIORI, P. E. R.; MACIEL, C. P.; EDUARDO CARUSO MACHADO, E. C.; RIBEIRO, R. V. Fotossíntese, relações hídricas e crescimento de cafeeiros jovens em relação à disponibilidade de fósforo.

**Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, n.9, p.965-972, 2010.

SOUZA, C. S. do C. R. de; SILVA, C. E. D. da; JUSTINO, G. D.; VERA, S. A. A.; GONÇALVES, J. F. de C. Características fotossintéticas de plantas jovens de *Inga edulis* submetidas a diferentes fontes de nitrogênio. **Ambiente: gestão e desenvolvimento**, v.4, n.1, p.14-20, 2012.

STRASSER, A.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; SRIVASTAVA, A. **Analysis of the fluorescence transient**, in: Papageorgiou, G. C.; Govindjee (eds.), Chlorophyll fluorescence: A signature of photosynthesis. Advances in Photosynthesis and Respiration Series. Springer, Dordrecht, 32-362, 2004.

THACH, L. B.; SHAPCOTT, A.; SCHMIDT, S.; CRITCHLEY, C. The OJIP fast fluorescence rise characterizes *Graptophyllum* species and their stress responses. **Photosynthesis Research**, 94: 423-436, 2007.

VIEIRA, D. A. de P.; PORTES, T. de A.; STACCIARINI-SERAPHIN, E.; TEIXEIRA, J. B. Fluorescência e teores de clorofilas em abacaxizeiro cv. Pérola submetido a diferentes concentrações de sulfato de amônio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 2, p. 360-368, 2010.