



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE *Pueraria phaseoloides***  
**SUBMETIDA À DEFICIÊNCIA HÍDRICA E ADUBAÇÃO**  
**NITROGENADA**

**João Colatino de Carvalho Tavares**

ITAPETINGA  
Agosto de 2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**Respostas fisiológicas de *Pueraria phaseoloides* submetida à  
deficiência hídrica e adubação nitrogenada**

Autor: João Colatino de Carvalho Tavares  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. D.Sc. Daniela Deitos Fries

ITAPETINGA  
BAHIA – BRASIL  
Agosto de 2016

**JOÃO COLATINO DE JOÃO COLATINO DE CARVALHO TAVARES**

**Respostas fisiológicas de *Pueraria phaseoloides* submetida à  
deficiência hídrica e adubação nitrogenada**

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. D.Sc. Daniela Deitos Fries

Co-orientadora: Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Gomes da Silva

ITAPETINGA  
Agosto de 2016

|               |   |
|---------------|---|
| 633.3<br>T23r | <p>Tavares, João Colatino de Carvalho.</p> <p>Respostas fisiológicas de <i>Pueraria phaseoloides</i> submetida à deficiência hídrica e a adubação nitrogenada. / João Colatino de Carvalho Tavares. – Itapetinga, BA: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2016.</p> <p>55 fl..</p> <p>Dissertação apresentada a Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB - <i>Campus</i> de Itapetinga para obtenção do título de Mestre em Zootecnia. Sob a orientação da Prof<sup>a</sup>. D. Sc. Daniela Deitos Fries; co-orientação da Prof<sup>a</sup>. D. Sc. Ana Paula Gomes da Silva.</p> <p>1. Leguminosa tropical – <i>Pueraria phaseoloides</i> – Estresse hídrico. 2. <i>Pueraria phaseoloides</i> – Adubação nitrogenada. 3. Solos – Hidratação – Leguminosa tropical. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Mestrado em Zootecnia, <i>Campus</i> de Itapetinga. II. Fries, Daniela Deitos. III. Silva, Ana Paula Gomes da. IV. Título.</p> <p style="text-align: right;"><b>CDD(21): 633.3</b></p> |
|---------------|---|

Catálogo na Fonte:

Cláudia Aparecida de Souza – CRB 1014-5ª Região  
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Leguminosa tropical
2. *Pueraria phaseoloides*
3. Estresse hídrico
4. Adubação nitrogenada
5. Solos : Hidratação

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA - UESB  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA - PPZ  
Área de Concentração: Produção de Ruminantes

Campus Itapetinga-BA

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

**Título:** "Respostas fisiológicas de *pueraria phaseoloides* submetidas à deficiência hídrica e adubação nitrogenada".

**Autor (a):** João Colatino de Carvalho Tavares

**Orientador (a):** Profª. Drª. Daniela Deitos Fries

**Co-orientador (a):** Drª. Ana Paula Gomes da Silva

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM ZOOTECNIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PRODUÇÃO DE RUMINANTES, pela Banca Examinadora:



Profª. Drª. Daniela Deitos Fries – UESB  
Orientadora



Prof. Dr. Fábio Andrade Teixeira – UESB



Prof. Dr. Paulo Valter Nunes Nascimento – UESB

Data de realização: 16 de agosto de 2016.

A minha avó, por ter me ajudado a construir esse sonho.

Dedico!!!

## AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, e pela oportunidade de estar contemplando esse sonho;

A família que Deus me concedeu, meus pais Pedro e Cláudia e minhas irmãs Maria Goia e Iasnaia. Vocês sempre serão responsáveis pelas minhas conquistas e felicidades;

Aos meus avós, tios, primos e agregados pelo afeto, alegria e apoio. Principalmente a uma família em especial, meus tios Carlota e José Nogueira e meus primos Lucas, Brisa e Mateus por estarem em minha vida nas horas mais difíceis e sempre terem me ajudado e orientado, e ao meu primo Ivo que considero como meu irmão;

A todos os meus companheiros de república. Principalmente a Alan com quem morei a maior parte do tempo;

A todos os meus colegas zootecnistas, que a cada dia me ajudam a aprender ainda mais. Em especial a Eliseu e Wderlan pois esses são os maiores exemplos de superação de vida;

A minha orientadora Daniela Deitos Fries, que hoje além de orientadora tenho como amiga, por ter me dado essa oportunidade e ter confiado em meu trabalho;

Ao grupo LAFIEP pelo apoio na condução dos experimentos, e pelos momentos de alegria. Em especial a Abdias, Daniel, Rebeca e Renata pela presença em toda hora que foi necessário;

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia pela possibilidade de aprendizado e realização da pesquisa;

Aos professores e funcionários do programa de pós-graduação em Zootecnia pela disponibilidade e profissionalismo;

À Fapesb, pela concessão da bolsa de estudos que auxiliou na condução da pesquisa e estudos.

## **BIOGRAFIA**

João Colatino de Carvalho Tavares, natural de Carlos Chagas – Minas Gerais, filho de Pedro Exuperio Tavares e Claudia Glady de Carvalho Tavares, nasceu em 18 de agosto de 1989.

Em 2007, iniciou o curso de Graduação em Zootecnia na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, em Itapetinga-BA, finalizando em 2013.

Em 2014, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Concentração em Produção de Ruminantes, em Itapetinga-BA, finalizando em 2016.



## SUMÁRIO

|  | Página |
|--|--------|
| LISTA DE FIGURAS .....                                 | vi     |
| LISTA DE TABELAS .....                                 | viii   |
| RESUMO .....   | x      |
| ABSTRACT .....   | xii    |
| I – INTRODUÇÃO .....                                   | 01     |
| II – REFERENCIAL TEÓRICO.....                          | 03     |
| 1. Leguminosas na recuperação de áreas degradadas..... | 03     |
| 2. <i>Pueraria phaseoloides</i> (kudzu tropical) ..... | 04     |
| 3. Adubação nitrogenada em leguminosas.....            | 05     |
| 4. Estresse por deficiência hídrica.....               | 06     |
| III – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....                  | 10     |
| IV – OBJETIVO GERAL.....                               | 14     |
| V – MATERIAL E MÉTODOS.....                            | 15     |
| VI – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....                       | 19     |
| VII – CONCLUSÕES FINAIS.....                           | 38     |
| VIII – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....                 | 39     |

## LISTA DE FIGURAS

|  | Página |
|--|--------|
| <p>FIGURA 1. Condutância estomática em <i>Pueraria phaseoloide</i>, sem adubação nitrogenada, submetida à diferentes regimes hídricos (25, 50, 75 e 100% da capacidade de campo (CC)) por um período de 28 dias (estresse), seguido de reidratação por 12 dias (29.º ao 40.º dia). A barra corresponde ao erro padrão da média. ....</p>         | 19     |
| <p>FIGURA 2. Condutância estomática em <i>Pueraria phaseoloide</i>, adubada com nitrogênio e submetida à diferentes regimes hídricos (25, 50, 75 e 100% da capacidade de campo (CC)) por um período de 28 dias (estresse), seguido de reidratação por 12 dias (29.º ao 40.º dia). A barra corresponde ao erro padrão da média.....</p>           | 19     |
| <p>FIGURA 3. Conteúdo relativo de água (CRA) em <i>Pueraria phaseoloide</i>, sem adubação nitrogenada, submetida à diferentes regimes hídricos (25, 50, 75 e 100% da capacidade de campo (CC)) por um período de 28 dias (estresse), seguido de reidratação por 12 dias (29.º ao 40.º dia). A barra corresponde ao erro padrão da média.....</p> | 20     |
| <p>FIGURA 4. Conteúdo relativo de água (CRA) em <i>Pueraria phaseoloide</i>, adubada com nitrogênio e submetida à diferentes regimes hídricos (25, 50, 75 e 100% da capacidade de campo (CC)) por um período de 28 dias (estresse), seguido de reidratação por 12 dias (29.º ao 40.º dia). A barra corresponde ao erro padrão da média.....</p>  | 20     |
| <p>FIGURA 5. <i>Pueraria phaseoloide</i> após a reidratação, não adubada com nitrogênio e submetida à diferentes regimes hídricos (25, 50, 75 e 100% da capacidade de campo (CC)) por um período de reidratação de 12 dias (29.º ao 40.º dia).....</p>   | 32     |

FIGURA 6. *Pueraria phaseoloide* após a reidratação, adubada com nitrogênio e submetida à regimes hídricos de 25 % da capacidade de campo CC por um período de reidratação de 12 dias (29.º ao 40.º dia).....32

## LISTA DE TABELAS

|   | Página |
|---|--------|
| TABELA 1. Características químicas do solo.....   | 14     |
| TABELA 2. Efeito do regime hídrico e do nitrogênio sobre a densidade estomática (D), diâmetro polar (DP), diâmetro equatorial (DE), razão diâmetro polar/ diâmetro equatorial (DP/DE), da parte abaxial (AB) em folhas de <i>Pueraria phaseoloide</i> ..... | 21     |
| TABELA 3. Efeito do regime hídrico e do nitrogênio sobre a densidade estomática (D), diâmetro polar (DP), diâmetro equatorial (DE), razão diâmetro polar/ diâmetro equatorial (DP/DE), da parte adaxial (AD) em folhas de <i>Pueraria phaseoloide</i> ..... | 22     |
| TABELA 4. Efeito do regime hídrico e do nitrogênio no estresse, sobre o teor de prolina de <i>Pueraria phaseoloides</i> .....   | 23     |
| TABELA 5. Efeito do regime hídrico e do nitrogênio no estresse, sobre o teor de Clorofila <i>a</i> , Clorofila <i>b</i> , Clorofila totais, carotenoides e razão clorofilas <i>a/b</i> de <i>Pueraria phaseoloide</i> .....                                 | 24     |
| TABELA 6. Efeito do regime hídrico e do nitrogênio no estresse sobre açúcares solúveis totais (AST) nas folhas de <i>Pueraria phaseoloide</i> .....   | 25     |
| TABELA 7. Efeito do regime hídrico e do nitrogênio no estresse sobre Açúcares solúveis totais (AST) e amido no caule de <i>Pueraria phaseoloide</i> .....   | 26     |
| TABELA 8. Efeito do regime hídrico e do nitrogênio sobre a altura, número de folhas vivas, número de ramificações, diâmetro de caule de <i>Pueraria phaseoloide</i> .....   | 27     |
| TABELA 9. Efeito do regime hídrico e do nitrogênio sobre o comprimento do folíolo, largura do folíolo e pecíolo de <i>Pueraria phaseoloide</i> .....  | 28     |
| TABELA 10. Efeito do regime hídrico e do nitrogênio sobre a massa seca de folhas verdes, massa seca do caule, razão folha/caule, massa seca da raiz, razão parte aérea/raiz, de <i>Pueraria phaseoloide</i> .....   | 29     |

|   |    |
|---|----|
| TABELA 11. Efeito do regime hídrico e do nitrogênio sobre o volume de raiz, número de nódulos e massa seca de nódulos de <i>Pueraria phaseoloide</i> .....  | 30 |
| TABELA 12. Efeito do regime hídrico e do nitrogênio sobre a área foliar, razão área foliar, razão de peso foliar, e área foliar específica de <i>Pueraria phaseoloide</i> .....   | 33 |
| TABELA 13. Efeito do regime hídrico e do nitrogênio na reidratação, sobre o teor de prolina de <i>Pueraria phaseoloides</i> .....   | 34 |
| TABELA 14. Efeito do regime hídrico e do nitrogênio na reidratação, sobre o teor de Clorofila <i>a</i> , Clorofila <i>b</i> , Clorofila totais, carotenoides e razão clorofilas <i>a/b</i> de <i>Pueraria phaseoloide</i> ..... | 35 |
| TABELA 15. Efeito do regime hídrico e do nitrogênio na reidratação sobre Açúcares solúveis totais (AST) nas folhas de <i>Pueraria phaseoloide</i> ..  | 36 |
| TABELA 16. Efeito do regime hídrico e do nitrogênio na reidratação sobre Açúcares solúveis totais (AST) e amido no caule de <i>Pueraria phaseoloide</i> .....   | 36 |
| TABELA 17. Efeito do regime hídrico e do nitrogênio no estresse sobre Açúcares solúveis totais (AST) e amido na raiz de <i>Pueraria phaseoloide</i> .....   | 37 |

## RESUMO

TAVARES, João Colatino de Carvalho. **Respostas fisiológicas de *Pueraria phaseoloides* submetidas à deficiência hídrica e adubação nitrogenada.** Itapetinga, BA: UESB, 2016. 55 p. Dissertação. (Mestrado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes). \*

Objetivou-se avaliar as características fisiológicas, anatômicas, estruturais e produtivas da leguminosa tropical *Pueraria phaseoloides*, sob efeito de estresse hídrico e adubada ou não com nitrogênio. O experimento foi realizado em casa de vegetação, no Campus “Juvino Oliveira”, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, UESB, município de Itapetinga-BA, no período de setembro a novembro de 2015. O ensaio foi conduzido em esquema fatorial 4 x 2, sendo quatro regimes hídricos (25, 50, 75 e 100% da capacidade de campo (CC)) e duas doses de nitrogênio (0 e 75 kg de N/ha), disposto em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, totalizando 32 vasos plásticos com 12 dm<sup>3</sup> de solo. Para determinação da capacidade de campo, os vasos com solo seco foram pesados, em seguida encharcados e pesados novamente. Pela diferença de peso seco e molhado, foi determinada a máxima capacidade de retenção de água, a qual foi em torno de 18%. O plantio das sementes foi realizado em 17 julho de 2015, sendo realizado desbaste após 15 dias, quando as plantas apresentavam em torno de 10 cm de altura, mantendo-se 4 plantas por vaso. Após 30 dias da sementeira, foi aplicado o nitrogênio em uma única dose de 1,022 g/ureia/vaso (75 Kg/ha). Por volta de 40 dias após a adubação nitrogenada, as plantas foram submetidas aos regimes hídricos de 25, 50, 75 e 100% da capacidade de campo, permanecendo por 28 dias. O período de estresse foi determinado pela redução na condutância estomática e perda de vigor das plantas submetidas ao regime de 25% da CC. Após o estresse, as plantas foram reidratadas por 15 dias, até atingirem as condições normais. A adubação nitrogenada mostrou ser uma alternativa para a implantação de *Pueraria phaseoloides* no campo, pois, além de favorecer uma maior produção de massa, não afeta a produção dos nódulos. A *Pueraria phaseoloides* se mostrou uma planta que tem preferência por uma hidratação do solo abaixo da capacidade de campo abaixo, por volta de 75%. Além disso, quando submetida a um

estresse hídrico apresentou características de adaptação como mecanismos de sobrevivência, reduzindo o número de folhas para um melhor controle de transpiração e promovendo alterações metabólicas em função de um ajuste osmótico.

Palavras-chave: Adubação, Consorcio, Legumina.

---

\* Orientadora: Daniela Deitos Fries, D.Sc. UESB e Co-orientadores: Ana Paula Gomes da Silva, Dr. UESB, Dr.

## ABSTRACT

TAVARES, João Colatino de Carvalho. **Physiological responses of *Pueraria phaseoloides* submitted to water and nitrogen fertilizer deficiency.** Itapetinga, BA: UESB, 2016. 55 p. Dissertation. (Master of Animal Science, Concentration Area in Ruminant Production). \*

This study aimed to evaluate the physiological, anatomical, structural and productive characteristics of tropical legume *Pueraria phaseoloides* under the effect of water stress and fertilized or not with nitrogen. The experiment was conducted in a greenhouse on campus "Juvino Oliveira" State University of Southwest Bahia, UESB, municipality of Itapetinga, BA, from September to November 2015. The trial was conducted in a factorial 4 x 2, four water regimes (25, 50, 75 and 100% of field capacity (FC)) and two doses of nitrogen (0 and 75 kg N / ha), arranged in a completely randomized design with four replications, totaling 32 vessels plastics with 12 dm<sup>3</sup> of solo. Para determining the field capacity, the pots with dry soil were weighed, being soaked and weighed again. The difference in dry and wet weight was determined maximum water retention capacity, which was about 18%. The planting of the seeds was carried out on 17 July 2015, grinding being performed after 15 days, when the plants were about 10 cm in height, remaining 4 seedlings per pot. After 30 days of sowing, nitrogen was applied in a single dose of 1,022 g / urea / vessel (75 kg / ha). Around 40 days after nitrogen fertilization, the plants were subjected to water regimes of 25, 50, 75 and 100% of field capacity, staying for 28 days. The period of stress was determined by the reduction in stomatal conductance and loss of plant vigor subject to 25% of the CC scheme. After the stress, plants were rehydrated for 15 days, until reaching normal conditions. Nitrogen fertilization could be an alternative for the implementation of *Pueraria phaseoloides* in the field as well as in promoting greater mass production and does not affect the production of nodules. *Pueraria phaseoloides* showed that a plant has a preference for a soil moisture below field capacity below about 75%. Moreover, when subjected to a water stress adaptation has characteristics such as mechanisms of survival, reducing the number of leaves for better control of perspiration and promoting metabolic changes due to an osmotic adjustment.



Keywords: Fertilization, Consorcio, Legumin

---

\* Adviser: Daniela Deitos Fries, D.Sc. UESB and Co-advisor: Ana Paula Gomes da Silva, Dr. UESB, Dr.

## I – INTRODUÇÃO

No mundo globalizado estamos diante de uma pecuária competitiva, fazendo-se necessária a intensificação dos sistemas de produção animal no Brasil. Além de produtivos, os sistemas devem ser sustentáveis e que não degrade o meio ambiente, o que exige investimento em novas tecnologias e processos de produção ambientalmente viáveis. Uma alternativa bastante promissora é o uso de leguminosas em sistemas consorciados com gramíneas, que pode contribuir para reduzir os problemas decorrentes da degradação dos ecossistemas.

Um dos requisitos para o sucesso desse sistema é a escolha adequada das espécies, tanto da leguminosa quanto da gramínea, que devem apresentar capacidade competitiva, resistência, adaptação e produção adequada. As leguminosas nas pastagens podem estar relacionadas a dois aspectos importantes: contribuir com nitrogênio para o sistema solo/planta e melhorar o conteúdo nutricional, particularmente em proteína, fósforo e cálcio.

O conhecimento sobre as leguminosas se torna importante pelo fato de serem encontrados problemas quando a sua utilização em sistemas consorciados, devido a sua baixa persistência. Dessa forma, o estudo do crescimento e desenvolvimento para sua implantação em pastagens se torna essencial.

Além disso, sendo o nitrogênio o nutriente de maior importância para o crescimento e a manutenção das plantas, sua utilização no estabelecimento de leguminosas pode favorecer a sua persistência, mesmo tendo a fixação biológica nessas plantas.

A região nordeste compreende amplas áreas com uma reduzida precipitação pluviométrica se tornando assim o fator ambiental mais limitante. Com as mudanças nas condições ambientais, tem ocorrido um aumento gradativo no período de seca, tornando assim um fato que pode resultar num agravamento de deficiência hídrica.

A baixa disponibilidade de água no solo é um dos principais fatores limitantes ao desenvolvimento das plantas, refletindo em sua produção. Podem ocorrer alterações morfológicas e metabólicas, em resposta às condições de deficiência hídrica, que

contribuem para a sobrevivência. Uma resposta de adaptação da planta sob estresse hídrico pode ser a inibição do crescimento, desviando a absorção de carbono para manutenção de raízes em busca de água. Existe uma carência de estudos relacionados às características fisiológicas e adaptações das plantas ao estresse hídrico, principalmente, em se tratando de leguminosas forrageiras.

A verificação das características de tolerância à deficiência hídrica de leguminosas tropicais, aliada à adubação nitrogenada poderá contribuir para o conhecimento mais expressivo de adaptação de plantas sob condições de estresse. Nesse sentido, as leguminosas, além de serem uma opção como alimentação animal, poderão contribuir favoravelmente minimizando danos ao solo decorrente da atividade pecuária.

## II – REFERENCIAL TEÓRICO

### 1. Leguminosas na recuperação de áreas degradadas

Degradação das pastagens é definida como um processo evolutivo da perda do vigor, produtividade, capacidade de recuperação natural das pastagens para sustentar os níveis de produção e da qualidade exigida pelos animais, bem como superar os efeitos nocivos de pragas, doenças e invasoras, culminando com a degradação avançada dos recursos naturais em razão de manejos inadequados (MACEDO & ZIMMER, 1993).

Dos cerca de 173 milhões de hectares de pastagens no Brasil, 117 milhões de hectares são de pastagens cultivadas. Estima-se que mais de 70% das pastagens cultivadas encontram-se em algum estágio de degradação, sendo que destas, uma grande parte com características avançadas de degradação (MACEDO et al., 2013). Segundo Barcellos (2008), nos últimos anos, o consumo de fertilizantes em pastagens tem variado de 400 a 500 mil toneladas, considerando que apenas a área de pastagem cultivada, de aproximadamente 140 milhões de hectares, recebe adubação, ter-se-ia que a adubação anual de pastagem seria da ordem de 2,9 a 3,6 kg/ha de fertilizantes NPK. Essa reposição insuficiente de nutrientes certamente é um dos principais fatores que explica o crescente processo de degradação das pastagens.

A consorciação entre gramíneas e leguminosas é uma alternativa para os produtores, que possibilita a superação de problemas como a qualidade da forragem, especialmente na estação de seca. Assim, o uso de leguminosas no processo de recuperação de pastagens degradadas tem ganhado destacada importância (PEREIRA et al, 2015). As leguminosas forrageiras, por sua capacidade fixadora e simbiótica do nitrogênio atmosférico, contribuem para a produção animal e são essenciais para incrementar a produtividade, constituindo um caminho sustentável de sistemas agrícola e pecuário (BARCELLOS, 2008).

Consórcios possibilitam maior aporte nutricional na dieta animal, gerando reciclagem de nutrientes e proporcionando maior produção por animal/área. Os consórcios são estabelecidos visando benefícios, dentre eles, a otimização da área cultivada, o aumento de produtividade, a melhoria das condições físico-hídricas do solo e a redução do custo da implantação das pastagens. Contudo, também são estabelecidas algumas limitações edafoclimáticas, principalmente relacionadas à competição de componentes básicos como água, luz e nutrientes (SANTOS et al., 2014).

Conforme Valle et al. (2009), dentre as dificuldades da implementação das leguminosas forrageiras estão: a resistência de convencimento dos produtores sobre os benefícios do seu uso (divulgação/orientação); a falta de interação entre os obtentores das tecnologias (cultivares) com a iniciativa privada, para fins de multiplicação e distribuição das sementes/propágulos, as falhas intrínsecas aos cultivares lançados, a baixa produção de sementes, conseqüentemente custo elevado de comercialização e baixa persistência na pastagem. Ainda, os autores expõem que as leguminosas forrageiras nativas do Brasil são hoje amplamente cultivadas e desempenham um papel importante na economia de países como China, Índia, Tailândia e inúmeros outros do continente africano, sendo utilizadas na alimentação bovina e outros grupos animais, na forma de ingrediente para rações, levando a resultados significativos quanto ao aumento de produtividade.

No entanto, segundo Macedo et al. (2013), atualmente esta situação está mudando e existe um renovado interesse por leguminosas, devido ao avanço tecnológico da produção pecuária, à necessidade de redução de custos de produção e, principalmente, a busca de fontes mais eficientes de uso do nitrogênio, para a recuperação de pastagens degradadas. Ainda, segundo os autores, essas forrageiras podem contribuir significativamente para reduzir o efeito dos gases do efeito estufa, pois pela fixação simbiótica de nitrogênio, contribuem para minorar o gasto energético na produção de fertilizantes nitrogenados, reduzir a emissão de óxido nitroso e podem contribuir significativamente para amenizar as emissões de metano por ruminantes pela melhora na dieta pelo melhor desempenho animal.

## **2. *Pueraria Phaseoloides* (kudzu Tropical).**

*Pueraria phaseoloides* é uma leguminosa herbácea perene, estolonífera e bastante competitiva, com crescimento decumbente ou volúvel. Nodula facilmente com bactérias do gênero *Rhizobium* presentes na maioria dos solos (RASMO et al., 2010). Tem sua origem no sudoeste da Ásia e foi introduzida no Brasil a partir da década de 1940, com o objetivo de ser utilizada como cobertura de solo nos plantios de seringueira na Amazônia (VALENTIM, 2010). Desde então sua utilização é, principalmente, na cobertura do solo em plantações de espécies perenes, como adubo verde, forrageira em pastos exclusivos ou consorciadas com gramíneas, forragem verde cortada, feno, silagem, entre outros (RASMO et al., 2010).

Segundo Souza Filho et al. (1999), o kudzu tropical é uma leguminosa forrageira que se destaca na região amazônica devido a sua adaptação aos solos ácidos, de baixa fertilidade e à sua agressividade, o que lhe confere capacidade competitiva em relação às plantas invasoras. Apresenta ainda adaptação desde solos arenosos a argilosos, possuindo tolerância moderada ao sombreamento e à períodos secos de quatro a cinco meses, apesar de haver perda considerável das folhas nesse período.

Conforme Valentim et al. (1984), esta leguminosa constitui-se em excelente fonte de proteína para o gado, além da sua relativa eficiência na fixação do nitrogênio atmosférico, melhorando conseqüentemente a fertilidade do solo. Possui também crescimento vigoroso, grande produção de biomassa, tolerância à seca, boa cobertura de solo e excelente produção de sementes, demonstrando seu potencial para o consórcio com gramíneas e permanecendo produtivas durante a estação seca. Visto que possui a vantagem de reduzir a incidência direta da chuva sobre o solo, minimizando os danos causados pela erosão e lixiviação, garantindo, por conseguinte, maior longevidade das pastagens.

### **3. Adubação nitrogenada em leguminosas**

O nitrogênio é o nutriente requerido em maior quantidade pelas plantas, por ser um constituinte dos ácidos nucléicos e de proteínas, moléculas fundamentais para todos os processos biológicos. No solo, o seu reservatório presente na matéria orgânica é limitado, podendo ser esgotado, rapidamente. No território brasileiro, as condições de temperatura e de umidade predominantes aceleram os processos de decomposição da

matéria orgânica, bem como, de perdas gasosas e por lixiviação de nitrogênio, resultando em solos com teores pobres desse nutriente (HUNGRIA et al., 2010).

Conforme Costa et al. (2006), a deficiência de nitrogênio tem sido apontada como a principal causa para a redução da produtividade e degradação das pastagens, que ocorre em áreas que não receberam adubação nitrogenada ou que receberam em baixos níveis. Sua deficiência reduz a taxa fotossintética, proporcionando um crescimento reduzido nas plantas. Fornecido adequadamente em condições favoráveis para o crescimento das plantas, proporciona aumento na produção de matéria seca (MS).

Apesar de muitas pesquisas terem apontado que a fixação biológica é suficiente para suprir a demanda de nitrogênio, ainda há situações em que ele é aplicado na adubação de base para promover o “arranque” na cultura, e prevenindo assim sintomas de deficiência principalmente nos estágios iniciais, até que a fixação se torne eficiente (PEREIRA et al., 2010).

Em trabalho realizado por Romanini Junior et al. (2007), foi demonstrado que a adubação nitrogenada em cobertura aumentou linearmente a produtividade de grãos na proporção de 3,1 e 3,7 kg de grãos de feijão por kg de nitrogênio aplicado, respectivamente no primeiro e segundo anos de cultivo, mostrando assim incremento na produção com o uso desse mineral em leguminosas. A produtividade do feijoeiro é favorecida pelo aumento no fornecimento de nitrogênio até a dose de 80 kg ha<sup>-1</sup> (BINOTTI et al., 2010).

De acordo com Silva et al. (2011), o nitrogênio mineral aplicado no sulco de semeadura quando ultrapassa doses maiores que 20 kg ha<sup>-1</sup> pode inibir a nodulação e, conseqüentemente, comprometer a eficiência da fixação biológica de nitrogênio, acarretando respostas negativas na produtividade. Assim, se torna necessário o conhecimento correto do efeito deste nitrogênio no processo de fixação biológica do nitrogênio atmosférico.

#### **4. Estresse por deficiência hídrica**

Estresse normalmente é definido como um fator externo, que exerce uma influência desvantajosa sobre a planta, este conceito está intimamente relacionado ao de tolerância ao estresse, que é a aptidão da planta para enfrentar um ambiente desfavorável. Sendo assim, deficiência hídrica pode ser definida como todo o conteúdo

de água de um tecido ou célula que está abaixo do conteúdo de água mais alto exibido no estado de maior hidratação (TAIZ & ZEIGER, 2004).

O estresse hídrico representa uma grande ameaça para a produtividade das culturas em todo o mundo, sendo considerado o fator ambiental mais importante na limitação da expansão e desenvolvimento das plantas (BATISTA et al., 2010; SCHIPPER et al., 2015). Dessa forma, as plantas estão expostas constantemente a estresses abióticos que comprometem a produção, e as interações, que causam modificações no crescimento, metabolismo e rendimento (PINTO et al., 2008).

A ocorrência de déficit hídrico em plantas cultivadas afeta o crescimento e o desenvolvimento das culturas em todo o mundo. Desde os antigos povos sumérios, o homem tem procurado uma alternativa mais efetiva do aproveitamento da água para superar os efeitos do déficit hídrico às plantas (SANTOS & CARLESSO, 1998). Sendo assim, a seca é um dos principais fatores que leva ao déficit hídrico, por ser o período de falta de precipitação, nesse período ocorre uma diminuição de água no solo, submetendo a planta ao estresse (Paiva e Oliveira, 2014).

O conhecimento das respostas da planta forrageira em condições de estresse hídrico é de grande importância para auxiliar no entendimento dos efeitos do período seco na produção de forragem, possibilitando o uso de práticas de manejo para melhor utilização do pasto durante esses períodos (ARAÚJO et al., 2010).

A tolerância à seca é um processo que envolve características complexas, as quais estão ligadas com a tentativa de adiar ao máximo um decréscimo no potencial hídrico prevenindo uma desidratação (PAIVA E OLIVEIRA, 2014).

Em uma escala global, a seca provoca mais perdas de rendimento do que qualquer outro fator biótico ou abiótico, resultando em crescente pressão para técnicos e criadores para identificar variedades de culturas que sejam tolerantes à seca para produção sustentável de alimentos e biocombustíveis. Maior conhecimento da função dos estômatos poderia fornecer a chave para esses melhoramentos das culturas (LAWSON, 2009).

A importância do estômato no mecanismo de perda de água e absorção de CO<sub>2</sub> está relacionada com a extrema sensibilidade dessa estrutura, tanto ao estresse ambiental como à fatores fisiológicos internos. Além disso, com a redução da condutância estomática diminui a perda de água das folhas e restringe a entrada de CO<sub>2</sub> nesses órgãos, o que diminui a assimilação fotossintética de carbono (ARAÚJO, 2009).



Em geral, a abertura estomática ocorre por meio de movimentos das células guarda, sendo estimulada por luz na faixa de onda fotossinteticamente eficaz, por baixas concentrações internas de CO<sub>2</sub> e por umidade elevada, enquanto o fechamento é promovido pela escuridão, baixa umidade, alta temperatura e altas concentrações internas de CO<sub>2</sub>, bem como hormônios vegetais, como o ácido abscísico (LAWSON, 2009).

Há características na anatomia vegetal que podem ser atribuídas a tolerância a diferentes condições ambientais para as plantas cultivadas, como tolerância à seca, (BATISTA et al., 2010). A radiação determinada por sua qualidade e intensidade que incide sobre as folhas promovendo modificações na espessura do mesofilo, na espessura da epiderme, na densidade e tamanho de estômatos e demais características estomáticas conferindo tolerância a essa condição (OLIVEIRA E MEGLIORANZA, 2014).

As plantas desenvolvem muitas estratégias fisiológicas e morfológicas para enfrentar o estresse hídrico, como redução da atividade fotossintética, acúmulo de ácidos orgânicos e substâncias osmoticamente ativas, além de mudanças no metabolismo de carboidratos (VALLIYODAN & NGUYEN, 2006). O teor de sacarose diminui em virtude da baixa assimilação fotossintética, ao metabolismo respiratório, à compartimentalização do carbono em amido e a translocação da sacarose para os drenos, demonstrando que qualquer influência da seca nesses processos pode afetar as concentrações de sacarose nas folhas (LAWLOR & CORNIC, 2002).

Segundo Maia et al. (2007), uma das mais bem documentadas respostas fisiológicas/moleculares ao déficit hídrico em plantas é a habilidade de algumas espécies de ajustar osmoticamente suas células, com o acúmulo açúcares, ácidos orgânicos e íons no citosol para diminuir o potencial osmótico, conseqüentemente, mantem o potencial hídrico e o turgor de suas células próximo do nível ótimo. Ainda segundo o autor, o acúmulo de prolina em tecidos foliares de diversas espécies quando submetidos às condições de estresse hídrico, já sua capacidade de acumular tem variações genotípicas, sendo que observadores estabeleceram correlações entre estas alterações e os níveis de tolerância ao estresse ambiental.

O ajuste osmótico como resposta das plantas ao estresse hídrico está correlacionado ao grau de tolerância. Ocorre a biossíntese e o acúmulo de solutos compatíveis, como o aminoácido prolina, no vacúolo ou no citosol, com função osmoprotetora, o que mantém o equilíbrio hídrico e preserva a integridade celular de

proteínas, enzimas e membranas, para a continuidade das atividades vitais, e constitui uma das estratégias adaptativas dos vegetais aos múltiplos efeitos causados pelos estresses (ABDUL JALEEL et al., 2007).

Segundo Pincelli (2010), dentre as alterações que ocorrem como resposta à deficiência hídrica pode-se destacar: alterações na altura, no número de folhas verdes, no comprimento e na largura das folhas, na área foliar e massa foliar específica, na densidade estomática, na condutância estomática, na eficiência quântica do fotossistema II, teor relativo de água, no conteúdo de clorofila, e alterações no acúmulo de matéria seca da parte aérea e das raízes.

A concentração de pigmentos fotossintéticos varia conforme a espécie vegetal, cujo teor demonstra a adaptabilidade das plantas a estresses ambientes. Esse teor é influenciado por fatores bióticos e abióticos, estando diretamente relacionado com o potencial de atividade fotossintética da planta (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Araújo et al. (2010), avaliando as características fotossintéticas de genótipos de capim-elefante anão submetidos a condições de estresse hídrico verificaram que a redução na disponibilidade hídrica foi acompanhada de uma redução na condutância estomática, semelhante para as três forrageiras. Segundo os autores, o estresse hídrico causou o fechamento estomático, o que reduziu a perda de água pela planta. Como consequência, a difusão do CO<sub>2</sub> no mesófilo foliar foi restringida. Este fato é corroborado por Taiz e Zeiger (2004), que relataram que muitos processos fisiológicos nas plantas, como a abertura e o fechamento estomático e, conseqüentemente, a fotossíntese, são regulados principalmente pela pressão de turgescência das células.

Lopes et al. (2011), avaliando dinâmica de perfilhamento, produção e qualidade da *Brachiaria brizantha* cv. MG-5 submetida a diferentes regimes hídricos e adubação nitrogenada, verificaram que a produção de forragem foi influenciada pelos regimes hídricos e pelas doses de nitrogênio, assim como pela interação regime hídrico x doses de nitrogênio sobre a produção de matéria verde, matéria seca da parte aérea e de raízes, assim mostrando que o nitrogênio tem influência na resposta da planta sobre o déficit hídrico, podendo assim diminuir o efeito do estresse sobre a planta.

### III - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL JALEEL, C.; MANIVANNAN, P.; KISHOREKUMAR, A.; SANKAR, B.; GOPI, R.; SOMASUNDARAM, R.; PANEERSELVAM, R. Alterations in osmoregulation, antioxidante enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water defi cit. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.59,v p.150-157, 2007.

ARAÚJO, S.A.C.; DEMINICIS, B.B. Fotoinibição da fotossíntese. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.7, n.4, p.463-472, 2009.

ARAÚJO, S.A.C.; VASQUEZ, H.M.; CAMPOSTRINI, E.; NETTO, A.T.; DEMINICIS, B.B.; LIMA, E. S. Características fotossintéticas de genótipos de capim-elefante anão (*Pennisetum purpureum* Schum.), em estresse hídrico *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, Maringá, v. 32, n. 1, p. 1-7, 2010.

ARAÚJO, L, W.; FERNIE, A. R.; NERSI, A. N. Control of stomatal aperture: a renaissance of the old guard. **Plant Signal. Behav.** 6, 1305–1311, 2011.

BARCELLOS, A. O.; RAMOS, A. K. B.; VILELA, L.; MARTHA JUNIOR, G. B. Sustentabilidade da produção animal baseada em pastagens consorciadas e no emprego de leguminosas exclusivas, na forma de banco de proteína, nos trópicos brasileiros. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTENCIA, 45., 2008, Lavras. Anais Lavras: SBZ. p. 51-67, 2008.

BATISTA, L. A. et al. Anatomia foliar e potencial hídrico na tolerância de cultivares de café ao estresse hídrico. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 41, n. 3, p. 475-481, 2010.

Binotti, F. F. S.; Arf, O.; Cardoso, E. D.; Sá, M. E.; Buzetti, S.; Nascimento, V. Fontes e doses de nitrogênio em cobertura no feijoeiro de inverno irrigado no sistema de plantio direto. **Bioscience Journal**, v.26, p.770-778, 2010.

COSTA, K. A. P.; OLIVEIRA, I. P.; FAQUIN, V. **Adubação Nitrogenada para Pastagens do Gênero *Brachiaria* em Solos do Cerrado**. Santo Antônio de Goiás, GO. Embrapa (Documentos 192). 60 p, 2006.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: Embrapa soja, 2007. 80 p.

LAWLOR D.H., CORNIC G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant, Cell and Environment** v.25, p. 275-294. 2002 .

LAWSON T. Guard cell photosynthesis and stomatal function. **New Phytologist** 181, 13–34, 2009.

LOPES, W.B.; CARVALHO, G.G.P. de; PATÊS, N.M. da S. et al. Dinâmica, produção e qualidade da *Brachiaria brizantha* submetida a regime hídrico e adubação nitrogenada. **Revista Brasileira Saúde e Produção Animal**,v.12, n.1, p.43-58, 2011.

Macedo, M. C. M., Zimmer, A. H., Kichel, A. N., de Almeida, R. G. & de Araújo, A. R. Degradação de pastagens, alternativas de recuperação e renovação, e formas de mitigação. Encontro de adubação de pastagens da Scot Consultoria-Tec-Fértil, (pp. 158-181), Ribeirão Preto, Brazil, 2013.

MACEDO, M.C.M.; ZIMMER, A.H. Sistemas pasto-lavoura e seus efeitos na produtividade agropecuária. In: FAVORETTO, V.; RODRIGUES, L.R.A.; REIS, R.A. (Eds.) Simpósio Sobre Ecossistemas das Pastagens, 2. Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP: UNESP, 1993, p.216-245, 1993.

MAIA, P. S. P.; NETO, C. F. O.; CASTRO, D. S.; FREITAS, J. M. N.; LOBATO, A. K. S.; COSTA, R. C. L. C. Conteúdo relativo de água, teor de prolina e carboidratos solúveis totais em folhas de duas cultivares de milho submetidas a estresse hídrico. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, supl.2, p.918-920, 2007.

OLIVEIRA, E.C.; MIGLIORANZA, É. Densidade e distribuição estomática em mandioca *Manihot esculenta* Crantz cultivar IAC 576-70. **Scientia Agropecuaria**, Londrina, vol.5 no.3 Trujillo 2014

PAIVA, R.; OLIVEIRA, L. M. **Fisiologia e Produção Vegetal**. Lavras:Editora UFLA, 2014. 82-83p.

PEREIRA, M. M.; REZENDE, C. P.; PEDREIRA, M. S.; PEREIRA, J. M.; MACEDO, T, M.; SILVA, H. G. O.; BORGES, A. M. F.; SILVA, A. M. P. Comportamento da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) submetida à adubação nitrogenada de plantio. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, Salvador, v.16, n.3, p.643-657, 2010.

PEREIRA, V. J.; RODRIGUES, J. F.; GOMES FILHO, R. R.; REIS, J. M. R. Valor alimentício do capim marandu, adubado ou consorciado com amendoim forrageiro, e características da carcaça de bovinos de corte submetido à pastejo rotacionado . **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 6, n. 10, p. 1-5, 2010.

PINCELLI, R. P.; **Tolerância à deficiência hídrica em cultivares de cana-deaçúcar avaliada por meio de variáveis morfofisiológicas** (Dissertação de Mestrado) - Universidade Estadual Paulista. 65f, 2010.

PINTO, C. M.; TÁVORA, F. J. F. A.; BEZERRA, M. A.; CORRÊA, M. C. M. Crescimento, distribuição do sistema radicular em amendoim, gergelim e mamona a ciclos de deficiência hídrica. **Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 39, n. 3, p. 429-436, 2008.

RASMO, A.K.B.; BARCELLOS, A. de O.; FENANDES, F.D. **Plantas Forrageiras**. Viçosa-MG: UFV, p.430-439 , 2010.

ROMANINI JUNIOR, A.; ARF, O.; BINOTTI, F. S.; SÁ, M. E.; BUZETTI, S.; FERNANDES, F. A. Avaliação da inoculação de rizóbio e adubação nitrogenada no desenvolvimento do feijoeiro, sob sistema plantio direto. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 4, p. 74-82, 2007.

SANTOS, F.C.; KURIHAMA, C.H.; RESENDE, A.V.; ALVARENGA, R.C.; ALBUQUERQUE FILHO, M.R. **Arranjo de Plantas de Braquiária em Consórcio com a Cultura do Milho**. Sete Lagoas, MG. 6p. (Circular Técnico, 202), novembro 2014.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológicos e fisiológicos das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.2, n. 3, p. 287-294, 1998.

SCHIPPERS, J. H.; SCHMIDT, R.; WAGSTAFF, C.; JING, H. C. Living to die and dying to live: The survival strategy behind leaf senescence. **Plant physiology**, 169(2), 914-930, 2015.

SILVA, A. F.; CARVALHO, M. A. C.; SCHONINGER, E. L.; MONTEIRO, S.; CAIONE, G.; SANTOS, P.A. Doses de inoculante e nitrogênio na semeadura da soja em área de primeiro cultivo. **Bioscience Journal**, Uberlandia, v. 27, n. 3, p. 404-412, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3 ed. Tradução: Eliane Romanato Santarém et al. Porto Alegre: Artmed, 2004, p. 618-619.

SOUZA FILHO, A.P.S.; SILVA, M.A.M.M.; DUTRA, S. Germinação de sementes de *Pueraria phaseoloides*: efeitos do pH, do nitrato e da salinidade. In: Reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. **Anais...** Porto Alegre – RS, 1999, p.36.

VALLE, C.B.; JANK, L.; RESENDE, R.M.S. O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. **Revista Ceres**, v.56, p.460-472, 2009

VALLIYODAN, B.; NGUYEN, H. T. Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v.9, n.2, p.189-195, 2006.

VALENTIM, J.F.; COSTA, A.L.; SILVA, C.S.; KOURE, J. Utilização de puerária na alimentação bovina. **Comunicado técnico**. Embrapa, Rio Branco - AC, 1984.

VALENTIM, J.F. Outras leguminosas forrageiras de importância econômica para a pecuária Brasileira. In: FONSECA, D.M.; MARTUSCELLO, J.A. (Eds.) **Plantas forrageiras**. Viçosa, MG: UFV, p.430-439, 2010.

## IV - OBJETIVOS GERAIS

Avaliar características estruturais, fisiológicas, anatômicas, e produtivas da leguminosa tropical *Pueraria phaseoloides* sob efeito de estresse hídrico, adubada ou não com nitrogênio.

Objetivos específicos:

1. Avaliar o crescimento de *Pueraria phaseoloides* em resposta ao estresse hídrico e a ação do nitrogênio, por meio das análises de crescimento, área foliar, nodulação, características estruturais e produção de massa seca e de raiz.

2. Verificar as respostas fisiológicas ao estresse hídrico e a ação do nitrogênio em plantas de *Pueraria phaseoloides*, pelas quantificações dos teores de clorofilas, prolina e carboidratos.

3. Identificar possíveis mecanismos de tolerância ao estresse hídrico, pela determinação do conteúdo relativo de água, fotossíntese e condutância estomática.

4. Verificar alterações decorrentes da deficiência hídrica e da adubação nitrogenada nas características dos estômatos, por meio de avaliações anatômicas.

## V - MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação, no Campus “Juvino Oliveira”, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, UESB, município de Itapetinga-BA, no período de julho a novembro de 2015. O ensaio foi conduzido em esquema fatorial 4 x 2, sendo quatro regimes hídricos (25, 50 75 e 100% da capacidade de campo (CC)) e duas doses de nitrogênio (0 e 75 kg de N/ha), disposto em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, totalizando 32 vasos plásticos com 12 dm<sup>3</sup> de solo.

Foi utilizado um solo de textura Franco Arenosa (segundo protocolo de análise do solo) coletado no Campus da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, UESB. O solo foi coletado na camada arável (0 a 20 cm), destorroado e passado em peneira com malha de 4 mm e posto para secar ao ar.

De acordo com as recomendações da Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais (ALVAREZ & RIBEIRO, 1999) e com a análise química do solo, realizada no Laboratório de Solos do Departamento de Engenharia Agrícola e Solos da UESB (Tabela 1), não houve necessidade de calagem, uma vez que o valor de saturação por base se encontrava em 70% na camada de solo coletado. De acordo com os autores, as leguminosas são classificadas como baixo nível tecnológico, estando os valores de K do solo adequados, havendo necessidade de correção apenas para o P, o qual foi aplicado na quantidade de 30 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, correspondendo a 1 g/vaso de superfosfato simples.

**Tabela 1.** Características químicas do solo.

| pH                 | mg/dm <sup>3</sup> | cmolc/dm <sup>3</sup> de solo |                  |                  |                  |                |     |     |     |    | % |     | g/dm <sup>3</sup> |
|--------------------|--------------------|-------------------------------|------------------|------------------|------------------|----------------|-----|-----|-----|----|---|-----|-------------------|
| (H <sub>2</sub> O) | P                  | K <sup>+</sup>                | Ca <sup>2+</sup> | Mg <sup>2+</sup> | Al <sup>3+</sup> | H <sup>+</sup> | S.B | T   | T   | V  | m | M.O |                   |
| 5,5                | 11                 | 0,87                          | 1,8              | 2,0              | 0,0              | 2,0            | 4,7 | 4,7 | 6,7 | 70 | 0 | 10  |                   |

Para determinação da capacidade de campo, os vasos com solo seco foram pesados, sendo encharcados e pesados novamente. Pela diferença de peso seco e molhado, foi determinada a máxima capacidade de retenção de água, a qual foi em torno de 18%.

As mudas de *Pueraria phaseoloides* (kudzu tropical) foram produzidas a partir de sementes comerciais com valor cultural (CV) de 50%. O plantio das sementes foi realizado em 17 julho de 2015, sendo realizado desbaste após 15 dias, quando as plantas apresentavam em torno de 10 cm de altura, mantendo-se 4 plantas por vaso. Após 30 dias da semeadura, foi aplicado o nitrogênio em uma única dose de 1,022 g/ureia/vaso. Durante a fase inicial de estabelecimento, o solo dos vasos foi mantido próximo à capacidade de campo. Para isso, todos os vasos foram pesados a cada dois dias, ao final das tardes, e a água perdida era repostada.

Por volta de 40 dias após a adubação nitrogenada, as plantas foram submetidas aos regimes hídricos de 25, 50, 75 e 100% da capacidade de campo, permanecendo por 28 dias. O período de estresse foi determinado pela redução na condutância estomática e perda de vigor das plantas submetidas ao regime de 25% da CC. Após o estresse, as plantas foram reidratadas por 15 dias, até atingirem as condições normais.

A determinação da reposição de água para cada regime hídrico foi calculada de acordo com o peso correspondente aos 18% de retenção de água, sendo completamente repostada a água dos vasos com solo próximo à capacidade de campo e a reposição foi proporcional a 75, 50 e 25% do peso nos outros regimes hídricos. Durante o período de estresse, todos os vasos foram pesados diariamente, repondo a água quando necessário. Durante o período de reidratação, a água de todos os vasos foi repostada até atingir o valor próximo à capacidade de campo inicial, sendo pesados diariamente.

A temperatura e umidade mínima, máxima e média foram registradas no período, com o auxílio de um termohigrômetro, e apresentaram valores médios de 19,78°C, 41,03°C, 32,76°C e 21,4%, 86,6% e 39,06% respectivamente, durante todo período experimental. A fim de minimizar os efeitos da temperatura durante o experimento foi utilizada uma tela de sombreamento sobre os vasos a uma altura de 2 m, sendo que as medidas de temperatura e umidade foram coletadas abaixo dela.

A condutância estomática foi realizada em folhas completamente expandidas, no período entre 9:00 e 11:00 horas, por meio de um porômetro, a cada 4 dias após o início do estresse.



O conteúdo relativo de água foi realizado em folhas completamente expandidas saudáveis e, imediatamente após a coleta, fragmentos foliares de aproximadamente 0,5 cm de lado foram cortados e pesados para determinação da massa fresca (MF). Em seguida, os fragmentos foram colocados em água destilada, por 4 horas em geladeira, para a determinação de massa túrgida (MT). Após a pesagem da MT, colocou-se em sacos de papel identificados, os quais foram levados para estufa de secagem com circulação de ar a 65°C por 72 horas, pesando-os novamente para se obter a massa seca (MS). A seguinte fórmula foi utilizada para o cálculo do CRA (Barrs, 1968):  $CRA (\%) = [(MF - MS) / (MT - MS)] \times 100$ , e o déficit de saturação hídrica (DSH) (%) =  $[(MT - MS) - (MF - MS)] / (MT - MS) \times 100$ .

Na reidratação foram realizadas análises de crescimento verificando-se a Taxa de Crescimento Absoluto (TCA), Taxa de Crescimento Relativo (TCR), Razão de Área Foliar (RAF), Razão de Peso Foliar (RPF), Área Foliar Específica (AFE), Taxa de Assimilação Líquida (TAL), Índice de Área Foliar (IAF) e Taxa de Crescimento da Cultura (TCC) (Cairo et al., 2008).

Para a extração das clorofilas e carotenóides, fragmentos de folhas completamente expandidas coletadas às 10 horas da manhã ao final dos períodos de deficiência hídrica e de reidratação, foram, imediatamente, pesados e colocados em frascos de vidro com 5 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO) envolvidos com papel alumínio. Após 72 horas foram realizadas as leituras no espectrofotômetro em comprimentos de onda de 665, 649 e 480 nm e quantificados de acordo com Wellburn (1994). Utilizaram-se as seguintes equações: [Clorofila a] ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) =  $12,19A_{665} - 3,45A_{649}$ , [Clorofila b] ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) =  $21,99A_{649} - 5,32A_{665}$ , [Carotenóides] ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) =  $(1000A_{480} - 2,14 \text{ Clorofila a} - 70,16 \text{ Clorofila b})/220$

Ao final do período de estresse e do período de reidratação foram realizadas as avaliações bioquímicas, para as quais foram coletadas folhas completamente expandidas, assim como caules da mesma região e parte das raízes de uma planta por vaso, os quais foram secos em estufa a 65°C durante 72 horas e moídos em moinho de bola.

Os carboidratos solúveis foram extraídos pela homogeneização de 300 mg de massa seca de folhas, caules e raízes em 4 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0) acrescido de 20 mM de ácido ascórbico, seguido de centrifugação a 4.000 rpm por 20 minutos e coleta do sobrenadante. O processo foi realizado mais duas vezes e os

sobrenadantes combinados para posteriores análises de açúcares solúveis totais e açúcares redutores. Para extração do amido, o pellet foi ressuspensionado com 5,0 mL do tampão acetato de potássio 200 mM (pH 4,8) e colocado em banho-maria (100°C) por cinco minutos. Após resfriamento à temperatura de incubação (50°C), foi adicionada a solução contendo 11 unidades da enzima amiloglucosidase, incubando-se em banho-maria a 50°C por duas horas, sob agitação. Após centrifugação a 4.000 rpm por 20 minutos, o sobrenadante foi coletado e o volume completado para 5 mL. Os açúcares solúveis totais e amido foram quantificados pelo método da Antrona (Dische, 1962) e açúcares redutores pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS) (MILLER, 1959).

Para a extração da prolina, 100 mg de massa seca de folhas e de caules foram homogeneizados com 5 mL de ácido sulfosalicílico 3%, sendo mantidos sob agitação constante à temperatura ambiente, por 60 minutos. Após esse período o material foi filtrado em papel filtro e realizada quantificação segundo Bates (1973).

Após o período de reidratação, os vasos foram desmontados por meio da lavagem contínua com água corrente e duas plantas foram dissecadas em raiz, folhas e caules. Foram avaliadas produção de massa seca, área foliar, produção e volume de raiz e massa seca e número de nódulos.

Foi determinado o volume de raiz (mL), com uso de proveta volumétrica, e a massa seca de raiz, folhas e caules por vaso por meio de secagem em estufa a 65°C por 72 horas.

Para a análise de área foliar, as folhas foram separadas e escaneadas em seguida. As imagens digitalizadas foram avaliadas no programa ImageJ, o qual determina a área da imagem ocupada pelas folhas pelo contraste com a área não ocupada. A área foliar foi calculada pela soma da área das imagens referente às duas plantas em cada repetição.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, considerando como fontes de variação a dose de N, a CC e a interação dose de N  $\times$  CC, testados a 5% de probabilidade. A interação foi desdobrada, ou não, de acordo com a significância e o efeito da CC foi avaliado por análise de regressão, as doses de N foram comparadas pelo teste F.

## VI - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1, as plantas de *Pueraria phaseoloide* submetidas a 25 e 50% da capacidade de campo (CC) apresentaram condutância estomática menor, aos 4 dias após a indução do estresse, quando comparadas às plantas sob 75 e 100% de capacidade de campo. A partir daí, houve recuperação da condutância estomática nas plantas à 50% CC, enquanto que, nas plantas à 25% CC, apesar de terem recuperado aos 12 dias após o início do estresse, houve uma gradativa diminuição, que se acentuou chegando a atingir valores próximos de  $50 \text{ Mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  no final do período de estresse, aos 28 dias. As plantas em regimes hídricos de 25% CC, após 4 dias de reidratação (32 dias de experimento), já mostraram uma recuperação, igualando o valor da condutância aos outros tratamentos com 12 dias de reidratação (40 dias de experimento).

As plantas adubadas com 75 kg/ha de nitrogênio (Figura 2) apresentaram uma queda mais acentuada nos primeiros 4 dias, chegando a uma condutância estomática de 200 e 100  $\text{Mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  nas plantas sob regime hídrico de 50 e 25% de capacidade de campo, respectivamente, recuperando-se já aos 8 dias após o início do estresse. Para as plantas submetidas a 50% da capacidade de campo se mantiveram com condutância próxima às plantas sob os regimes hídricos de 75 e 100% CC, houve um declínio chegando próximo a  $30 \text{ Mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  ao final do estresse, para as plantas submetidas a 25% CC. Esses resultados foram muito semelhantes aos observados para as plantas que não receberam adubação nitrogenada. Entretanto, com a adubação as plantas se recuperaram, na reidratação, após 8 dias, igualando-se àquelas dos outros tratamentos. Isso mostra uma recuperação mais rápida do que as plantas sem adubação nitrogenada. Segundo Araújo e Deminiciis (2009) a condutância estomática é um parâmetro indicativo de déficit hídrico, mostra que há alta correlação entre o início da inibição da seca induzida em diferentes processos fotossintéticos e a condutância estomática, ela é relativamente alta quando superior a  $150 \text{ Mmol H}_2\text{O}$ , baixa quando menor que  $100 \text{ Mmol H}_2\text{O}$  e muito baixa  $50 \text{ Mmol H}_2\text{O}$ .

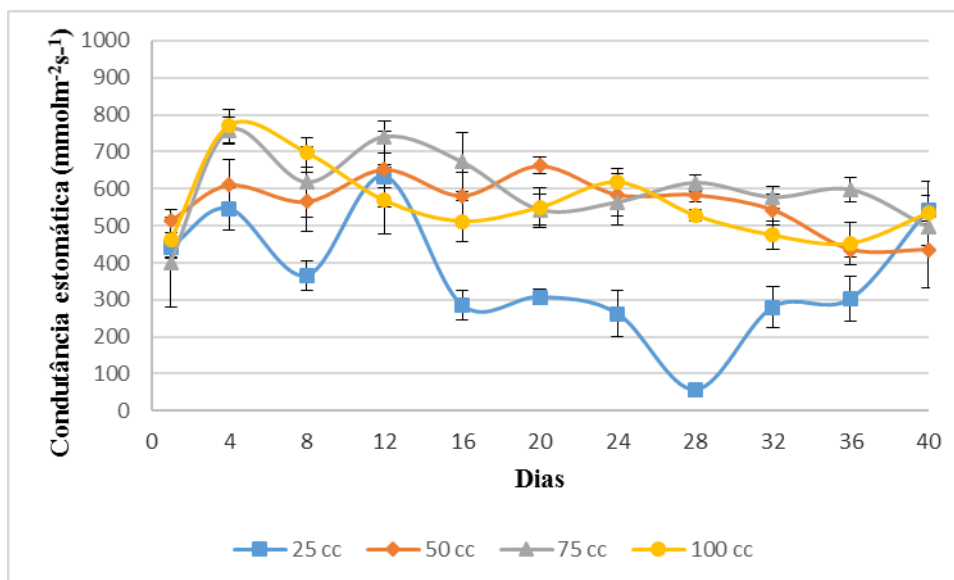


Figura 1- Condutância estomática em *Pueraria phaseoloide*, sem adubação nitrogenada, submetida à diferentes regimes hídricos (25, 50, 75 e 100% da capacidade de campo (CC)) por um período de 28 dias (estresse), seguido de reidratação por 12 dias (29.º ao 40.º dia). A barra corresponde ao erro padrão da média.

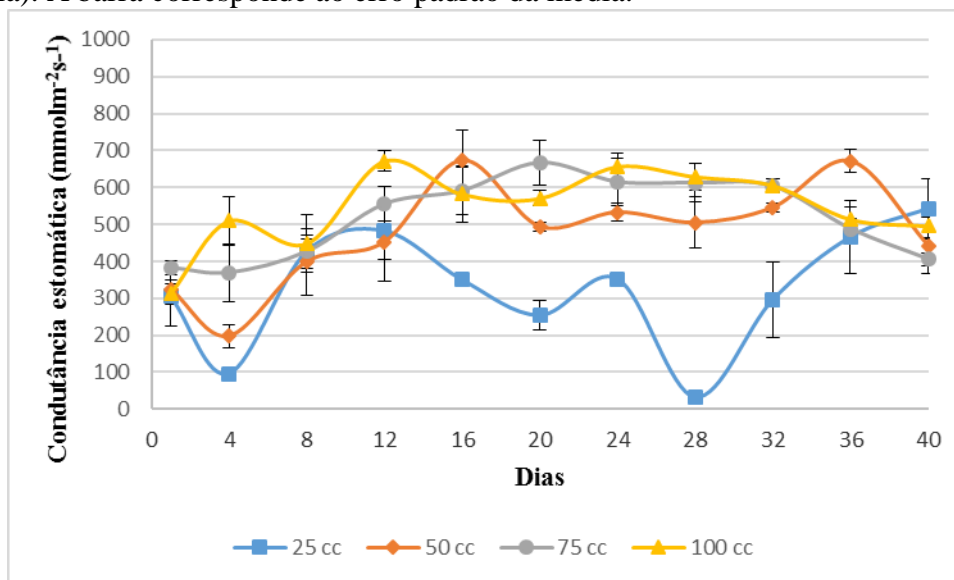


Figura 2 - Condutância estomática em *Pueraria phaseoloide*, adubada com nitrogênio e submetida à diferentes regimes hídricos (25, 50, 75 e 100% da capacidade de campo (CC)) por um período de 28 dias (estresse), seguido de reidratação por 12 dias (29.º ao 40.º dia). A barra corresponde ao erro padrão da média.

O conteúdo relativo de água se manteve semelhante nas plantas de *Pueraria phaseoloide*, adubadas ou não com nitrogênio, em todos os regimes hídricos (25, 50, 75 e 100% CC) (Figuras 3 e 4). Aos 28 dias, as plantas em regime hídrico de 25% capacidade de campo mostraram queda no CRA, ficando por volta de 65 e 54%, em ausência e presença da adubação nitrogenada, respectivamente, ocorrendo morte das

folhas. Após 4 dias de reidratação, houve recuperação total do CRA, começando o surgimento de novas folhas.

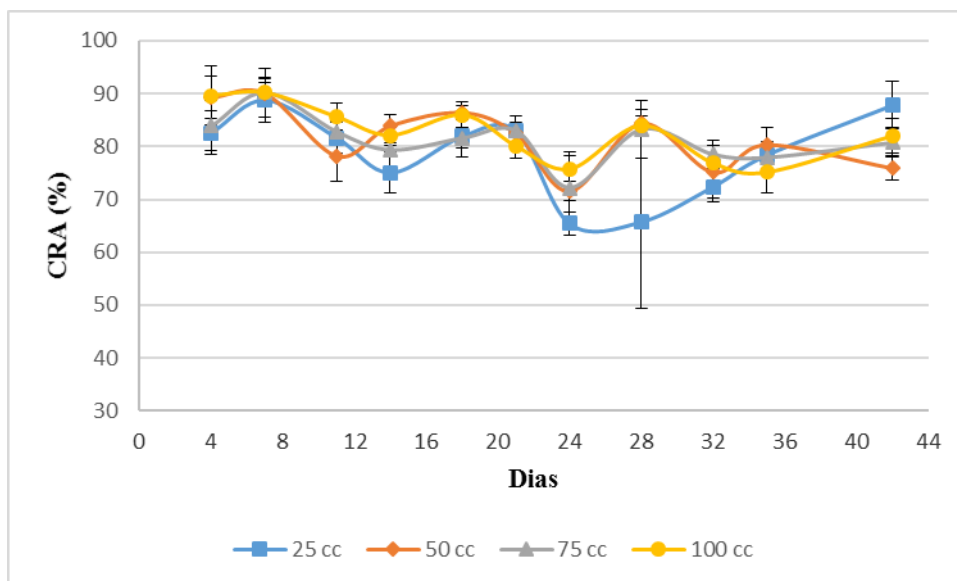


Figura 3 - Conteúdo relativo de água (CRA) em *Pueraria phaseoloide*, sem adubação nitrogenada, submetida à diferentes regimes hídricos (25, 50, 75 e 100% da capacidade de campo (CC)) por um período de 28 dias (estresse), seguido de reidratação por 12 dias (29.º ao 40.º dia). A barra corresponde ao erro padrão da média.

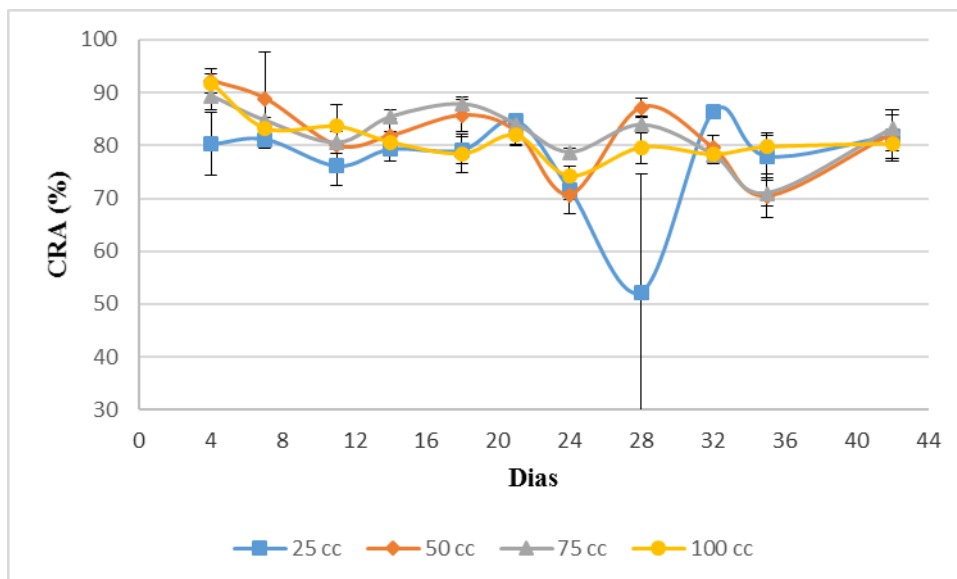


Figura 4 - Conteúdo relativo de água (CRA) em *Pueraria phaseoloide*, adubada com nitrogênio e submetida à diferentes regimes hídricos (25, 50, 75 e 100% da capacidade de campo (CC)) por um período de 28 dias (estresse), seguido de reidratação por 12 dias (29.º ao 40.º dia). A barra corresponde ao erro padrão da média.

Não houve efeito significativo da interação ( $P > 0,05$ ) na densidade estomática, diâmetro equatorial, razão diâmetro polar/diâmetro equatorial, nas partes abaxial e adaxial (Tabela 2 e 3). No entanto, a parte abaxial, o diâmetro polar apresentou

interação significativa ( $P < 0,05$ ), de forma que o nitrogênio reduziu esse parâmetro no menor regime hídrico (Tabela 2).

Tabela 2 – Efeito do regime hídrico e do nitrogênio sobre a densidade estomática (D), diâmetro polar (DP), diâmetro equatorial (DE), razão diâmetro polar/ diâmetro equatorial (DP/DE), da parte abaxial (AB) em folhas de *Pueraria phaseoloide*

| Kg /há<br>de N                                  | CC     |        |        |        | Média | CV <sup>1</sup><br>(%) | Valor P        |                |                |
|---|--------|--------|--------|--------|-------|------------------------|----------------|----------------|----------------|
|   | 25     | 50     | 75     | 100    |       |                        | L <sup>2</sup> | Q <sup>3</sup> | C <sup>4</sup> |
| <b>Densidade estomática (n°/mm<sup>2</sup>)</b> |        |        |        |        |       |                        |                |                |                |
| 0   | 327,6  | 325,0  | 289,7  | 235,7  | 294,5 | 28,4                   |                |                |                |
| 75  | 256,6  | 283,9  | 252,6  | 243,7  | 259,2 |                        |                |                |                |
| Média   | 292,1  | 304,4  | 271,2  | 239,7  |       |                        | 0,139          | 0,440          | 0,707          |
| <b>Diâmetro polar (µm)</b>                      |        |        |        |        |       |                        |                |                |                |
| 0   | 39,5 a | 35,5 a | 35,9 a | 33,5 a | 36,1  | 7,26                   | 0,833          | 0,761          | 0,052          |
| 75  | 32,7 b | 33,9 a | 38,6 a | 36,4 a | 25,4  |                        | 0,854          | 0,742          | 0,064          |
| Média   | 36,1   | 34,7   | 37,2   | 34,9   |       |                        |                |                |                |
| <b>Diâmetro equatorial (µm)</b>                 |        |        |        |        |       |                        |                |                |                |
| 0   | 30,55  | 27,24  | 29,14  | 25,69  | 28,15 | 8,37                   |                |                |                |
| 75  | 26,04  | 27,27  | 28,28  | 26,55  | 27,03 |                        |                |                |                |
| Média   | 28,29  | 227,2  | 28,71  | 26,12  |       |                        | 0,179          | 0,351          | 0,086          |
| <b>Razão DP/DE</b>                              |        |        |        |        |       |                        |                |                |                |
| 0   | 1,29   | 1,30   | 1,23   | 1,30   | 1,28  | 6,75                   |                |                |                |
| 75  | 1,26   | 1,25   | 1,36   | 1,37   | 1,31  |                        |                |                |                |
| Média   | 1,28   | 1,27   | 1,30   | 1,34   |       |                        | 0,156          | 0,492          | 0,964          |

Médias seguidas por letras diferentes diferem na coluna (  $P < 0,05$  ) pelo teste F .<sup>1</sup>Coeficiente de variação, <sup>2</sup>L - linear, <sup>3</sup>Q = quadrático, <sup>4</sup>C = cubico.

A redução de tamanho e o aumento de densidade é um mecanismo que a planta tem para melhorar a tolerância a déficit hídrico, diminuindo a perda de água sendo mais eficiente na captação do CO<sub>2</sub>.

Segundo Castro et al. (2009) condições ambientais como estresse hídrico alteram o tamanho e a densidade dos estômatos, com o intuito de auxiliar a planta na tolerância desta condição.

A densidade estomática na parte adaxial foi maior para as plantas sem adubação com N. A presença de nitrogênio reduziu o diâmetro polar do estômato apenas em

deficiência hídrica severa e, de uma maneira geral, reduz a densidade estomática da face adaxial, superfície em contato direto com a radiação.

Tabela 3 – Efeito do regime hídrico e do nitrogênio sobre a densidade estomática (D), diâmetro polar (DP), diâmetro equatorial (DE), razão diâmetro polar/ diâmetro equatorial (DP/DE), da parte adaxial (AD) em folhas de *Pueraria phaseoloide*

| Kg /há<br>de N                                  | CC    |      |      |      | Média  | CV <sup>1</sup><br>(%) | Valor P        |                |                |
|---|-------|------|------|------|--------|------------------------|----------------|----------------|----------------|
|   | 25    | 50   | 75   | 100  |        |                        | L <sup>2</sup> | Q <sup>3</sup> | C <sup>4</sup> |
| <b>Densidade estomática (n°/mm<sup>2</sup>)</b> |       |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0   | 102,6 | 96,4 | 92,4 | 90,6 | 95,5 a | 34,4                   |                |                |                |
| 75  | 51,7  | 52,6 | 66,0 | 73,2 | 60,9 b |                        |                |                |                |
| Média   | 77,2  | 74,5 | 79,2 | 81,9 |        |                        | 0,663          | 0,781          | 0,828          |
| <b>Diâmetro polar (µm)</b>                      |       |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0   | 24,3  | 22,7 | 22,7 | 23,5 | 23,3   | 7,78                   |                |                |                |
| 75  | 23,8  | 22,9 | 23,1 | 22,3 | 23,0   |                        |                |                |                |
| Média   | 24,1  | 22,8 | 22,9 | 22,9 |        |                        | 0,253          | 0,316          | 0,637          |
| <b>Diâmetro equatorial (µm)</b>                 |       |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0   | 16,7  | 14,5 | 14,6 | 15,6 | 15,4   | 9,95                   |                |                |                |
| 75  | 15,9  | 14,9 | 15,1 | 15,1 | 15,2   |                        |                |                |                |
| Média   | 16,3  | 14,7 | 14,9 | 15,4 |        |                        | 0,291          | 0,057          | 0,549          |
| <b>Razão DP/DE</b>                              |       |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0   | 1,45  | 1,57 | 1,54 | 1,51 | 1,52   | 6,29                   |                |                |                |
| 75  | 1,49  | 1,53 | 1,53 | 1,47 | 1,51   |                        |                |                |                |
| Média   | 1,47  | 1,55 | 1,54 | 1,49 |        |                        | 0,779          | 0,080          | 0,676          |

Médias seguidas por letras diferentes diferem na coluna ( P < 0,05 ) pelo teste F .<sup>1</sup>Coeficiente de variação, <sup>2</sup>L - linear, <sup>3</sup>Q = quadrático, <sup>4</sup>C = cubico.

Não houve efeito significativo para a interação com o nitrogênio (Tabela 4), mas a prolina apresentou resposta quadrática (P>0,05) para o regime hídrico e. No regime hídrico de 25% CC, o teor de prolina foi cerca de 5 vezes maior quando comparado com os demais regimes hídricos. Segundo Maia et al. (2007), o acúmulo de prolina em tecidos foliares de diversas espécies quando submetidos às condições de estresse hídrico tem variações genotípicas. O aumento nos teores de prolina em *Pueraria phaseoloide*

demonstrara sua potencialidade genética em aumentar a concentração desse aminoácido em função da deficiência hídrica.

O efeito quadrático da produção de prolina, com altas concentrações em 25% CC somente, demonstrou a capacidade de ajuste osmótico e uma possível adaptação favorável dessa planta em condições de baixa umidade no solo.

A biossíntese e o acúmulo de solutos osmoticamente ativos, como o aminoácido prolina, no vacúolo ou no citosol, tem função osmoprotetora, o que mantém o equilíbrio hídrico e preserva a integridade celular de proteínas, enzimas e membranas (ABDUL JALEEL et al., 2007).

Marin *et al.* (2006) demonstraram que sob restrição hídrica severa, a espécie leguminosa *Cajanus cajan*, apresenta altos teores de prolina livre na parte aérea.

Tabela 4 – Efeito do regime hídrico e do nitrogênio no estresse, sobre o teor de prolina de *Pueraria phaseoloides*

| Kg /há<br>de N                   | CC   |      |      |      | Média | CV <sup>1</sup><br>(%) | Valor P        |                |                |
|----------------------------------|------|------|------|------|-------|------------------------|----------------|----------------|----------------|
|                                  | 25   | 50   | 75   | 100  |       |                        | L <sup>2</sup> | Q <sup>3</sup> | C <sup>4</sup> |
| <b>Prolina (mg prolina/g MS)</b> |      |      |      |      |       |                        |                |                |                |
| 0                                | 4,26 | 0,49 | 0,44 | 0,70 | 1,47  | 97,05                  |                |                |                |
| 75                               | 2,11 | 0,77 | 0,67 | 0,74 | 1,07  |                        |                |                |                |
| Média <sup>5</sup>               | 3,19 | 0,63 | 0,56 | 0,72 |       |                        | 0,001          | 0,005          | 0,257          |

<sup>1</sup>Coefficiente de variação, <sup>2</sup>L - linear, <sup>3</sup>Q = quadrático, <sup>4</sup>C = cubico. Equação de regressão:  $\hat{Y} = 0,0011x^2 - 0,1659x + 6$ ,  $R^2 = 0,9479$

Não houve efeito da interação ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos para a clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total, carotenoides e relação clorofila *a*/ clorofila *b* (Tabela 5), nem para o regime hídrico. Para o nitrogênio houve efeito significativo apenas para relação clorofila *a*/*b*, devido a menor quantidade de clorofila *b* quando se adubou com N.

A clorofila não foi afetada pela deficiência hídrica, o que demonstra boa adaptação na manutenção desse pigmento em folhas intactas, porém, a redução no número de folhas em função do estresse reduz a área fotossintética mesmo sendo uma característica adaptativa na redução da perda de água. Ainda que não haja alteração nas características estomáticas. Segundo Carvalho et al. (2003) decréscimos nos teores de clorofila podem ser sintoma característico de estresse oxidativo, e tem sido verificado em plantas sob estresse hídrico.



Tabela 5 - Efeito do regime hídrico e do nitrogênio no estresse, sobre o teor de Clorofila *a*, Clorofila *b*, Clorofila totais, carotenoides e razão clorofilas *a/b* de *Pueraria phaseoloide*

| Kg /há<br>de N                                   | CC   |      |      |      | Média  | CV <sup>1</sup><br>(%) | Valor P        |                |                |
|--|------|------|------|------|--------|------------------------|----------------|----------------|----------------|
|  | 25   | 50   | 75   | 100  |        |                        | L <sup>2</sup> | Q <sup>3</sup> | C <sup>4</sup> |
| <b>Clorofila a (mg /g de matéria fresca)</b>     |      |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0  | 2,57 | 1,34 | 2,05 | 1,77 | 1,93   | 41,89                  |                |                |                |
| 75   | 1,83 | 1,73 | 2,81 | 1,40 | 1,94   |                        |                |                |                |
| Média  | 2,20 | 1,54 | 2,43 | 1,58 |        |                        | 0,465          | 0,752          | 0,017          |
| <b>Clorofila b (mg /g de matéria fresca)</b>     |      |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0  | 0,66 | 0,40 | 0,56 | 0,49 | 0,53   | 45,46                  |                |                |                |
| 75   | 0,42 | 0,36 | 0,40 | 0,40 | 0,39   |                        |                |                |                |
| Média  | 0,54 | 0,38 | 0,48 | 0,44 |        |                        | 0,587          | 0,412          | 0,237          |
| <b>Carotenoides (mg /g de matéria fresca)</b>    |      |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0  | 0,34 | 0,21 | 0,31 | 0,22 | 0,27   | 41,93                  |                |                |                |
| 75   | 0,34 | 0,28 | 0,45 | 0,24 | 0,33   |                        |                |                |                |
| Média  | 0,34 | 0,24 | 0,38 | 0,23 |        |                        | 0,345          | 0,553          | 0,016          |
| <b>Clorofila total (mg /g de matéria fresca)</b> |      |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0  | 3,23 | 1,75 | 2,61 | 2,26 | 2,46   | 39,38                  |                |                |                |
| 75   | 2,25 | 2,09 | 3,21 | 1,80 | 2,34   |                        |                |                |                |
| Média  | 2,74 | 1,92 | 2,91 | 2,03 |        |                        | 0,454          | 0,929          | 0,021          |
| <b>Relação Clorofilas a/b</b>                    |      |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0  | 4,26 | 3,25 | 3,63 | 3,99 | 3,78 b | 36,57                  |                |                |                |
| 75   | 4,75 | 4,55 | 7,05 | 3,79 | 5,03 a |                        |                |                |                |
| Média  | 4,50 | 3,90 | 5,34 | 3,89 |        |                        | 0,875          | 0,466          | 0,065          |

Médias seguidas por letras diferentes diferem na coluna (  $P < 0,05$  ) pelo teste F .<sup>1</sup>Coeficiente de variação, <sup>2</sup>L - linear, <sup>3</sup>Q = quadrático, <sup>4</sup>C = cubico.

Em condições de estresse hídrico e combinado com excesso de calor ou de radiação, as plantas perdem clorofila (HAVAUX & TARDY, 1999), de forma que o conteúdo total de clorofilas nas folhas pode ser um indicativo do estresse hídrico nas plantas (CHYLINSKI et al., 2007). No entanto, no presente estudo, não foi verificada redução nos conteúdos de clorofilas totais em função do estresse hídrico. No regime

hídrico de 25% de capacidade de campo ocorreu senescência das folhas no início do estresse, o que influenciou na redução da área foliar.

Para o conteúdo de açúcares solúveis totais (AST) nas folhas não houve efeito da interação ( $P>0,05$ ) para regime hídrico e nitrogênio (Tabela 6).

Tabela 6 – Efeito do regime hídrico e do nitrogênio no estresse sobre açúcares solúveis totais (AST) nas folhas de *Pueraria phaseoloide*

| Kg /há<br>de N                                | CC   |      |      |      | Média | CV <sup>1</sup><br>(%) | Valor P        |                |                |
|---|------|------|------|------|-------|------------------------|----------------|----------------|----------------|
|   | 25   | 50   | 75   | 100  |       |                        | L <sup>2</sup> | Q <sup>3</sup> | C <sup>4</sup> |
| <b>Açúcares solúveis totais (mg AST/g MS)</b> |      |      |      |      |       |                        |                |                |                |
| 0   | 45,2 | 48,7 | 43,5 | 52,1 | 47,4  | 12,09                  |                |                |                |
| 75  | 52,8 | 44,2 | 44,3 | 48,0 | 47,1  |                        |                |                |                |
| Média   | 49,0 | 46,4 | 43,4 | 50,1 |       |                        | 0,913          | 0,060          | 0,291          |

<sup>1</sup>Coefficiente de variação, <sup>2</sup>L - linear, <sup>3</sup>Q = quadrático, <sup>4</sup>C = cubico.

Já para açúcares solúveis totais no caule, não houve efeito da interação ( $P>0,05$ ), mas houve efeito significativo para nitrogênio, que influenciou em menores concentrações nos caules de plantas adubadas com N (Tabela 7). Da mesma forma, a interação não foi significativa para os teores de amido no caule. Entretanto, o regime hídrico influenciou com efeito quadrático a concentração desse carboidrato, apresentando maior concentração (17,43 mg/g de MS) em um regime hídrico de 73,47% CC (Tabela 8). O maior acúmulo de reservas de amido demonstra boas condições fotossintéticas em regimes hídricos um pouco menores que a capacidade de campo, o que indica, mais uma vez, a adaptação dessas plantas a essas condições.

Os baixos teores de amido em estresse hídrico mais intenso indicam sua utilização para a manutenção da planta nessas condições. Isso pode favorecer sua recuperação pós-estresse. Desta forma esses menores teores ocorrem somente em 25% CC, o que pode ser um indicativo de estratégias de tolerância em 50% CC, explicando também a manutenção da condutância estomática alta nessas condições.

O acúmulo de açúcares solúveis, como a sacarose e seus produtos de hidrólise (glicose e frutose), tem sido extensamente relatado em resposta a deficiência hídrica, contribuindo para o processo de ajustamento osmótico nas plantas (BAJJI et al., 2001; HARE et al., 1998). Esse acúmulo de carboidratos é o principal mecanismo utilizado

pelas plantas para sustentar seu desenvolvimento e promover a manutenção de seu metabolismo durante períodos de estresse (FAUST, 1989).

Tabela 7 – Efeito do regime hídrico e do nitrogênio no estresse sobre Açúcares solúveis totais (AST) e amido no caule de *Pueraria phaseoloide*

| Kg /ha<br>de N                                | CC   |      |      |      | Média  | CV <sup>1</sup><br>(%) | Valor P        |                |                |
|---|------|------|------|------|--------|------------------------|----------------|----------------|----------------|
|   | 25   | 50   | 75   | 100  |        |                        | L <sup>2</sup> | Q <sup>3</sup> | C <sup>4</sup> |
| <b>Açúcares solúveis totais (mg AST/g MS)</b> |      |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0   | 47,4 | 50,1 | 41,4 | 47,6 | 46,6 a | 12,51                  |                |                |                |
| 75  | 36,7 | 43,5 | 44,8 | 43,0 | 42,0 b |                        |                |                |                |
| Média   | 42,1 | 46,8 | 43,1 | 45,3 |        |                        | 0,643          | 0,512          | 0,139          |
| <b>Amido (mg Amido/g MS)</b>                  |      |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0   | 9,1  | 14,0 | 14,2 | 12,4 | 12,4   | 32,8                   |                |                |                |
| 75  | 6,8  | 19,6 | 17,2 | 17,4 | 15,3   |                        |                |                |                |
| Média <sup>5</sup>                            | 8,0  | 16,8 | 15,7 | 14,9 |        |                        | 0,007          | 0,003          | 0,143          |

Médias seguidas por letras diferentes diferem na coluna (  $P < 0,05$  ) pelo teste F. <sup>1</sup>Coeficiente de variação, <sup>2</sup>L - linear, <sup>3</sup>Q = quadrático, <sup>4</sup>C = cubico Equação de regressão:  ${}^5\hat{Y} = -0,0038x^2 + 0,5584x - 3,05$   $R^2 = 0,8904$ .

Não houve efeito da interação ( $P > 0,05$ ) entre regime hídrico e adubação nitrogenada para a altura, número de folhas vivas, número de ramificações e diâmetro de caule (Tabela 8). A altura da planta foi maior na presença de nitrogênio e apresentou efeito quadrático ( $P < 0,05$ ) para o regime hídrico, o que resultou num aumento de 18% na altura das plantas, apresentando um valor máximo de 86,55 cm em um regime hídrico de 76% CC. Já para número de folhas vivas (NFV), houve efeito quadrático do regime hídrico ( $P < 0,05$ ) alcançando um máximo de 32 folhas em 77% da CC, não apresentando efeito significativo para a adubação.

Não houve interação significativa ( $P > 0,05$ ) entre regime hídrico e adubação nitrogenada para comprimento do pecíolo. Para comprimento e largura do folíolo a interação foi significativa ( $P < 0,05$ ) e houve efeito da presença de N quando o regime hídrico foi 100% CC, sendo maior para 75 kg de N/ há. O efeito no crescimento se dá em função do N ser constituinte da clorofila, que em condições de boa hidratação tem grande eficiência. Ao mesmo tempo, para comprimento do folíolo, o regime hídrico apresentou efeito quadrático na ausência e presença de adubação nitrogenada, enquanto

que para largura do folíolo, na presença da adubação, o efeito do regime hídrico foi linear (Tabela 9).

Tabela 8 – Efeito do regime hídrico e do nitrogênio sobre a altura, número de folhas vivas, número de ramificações, diâmetro de caule de *Pueraria phaseoloide*

| Kg /há<br>de N                | CC   |      |      |      | Média  | CV <sup>1</sup><br>(%) | Valor P        |                |                |
|-------------------------------|------|------|------|------|--------|------------------------|----------------|----------------|----------------|
|                               | 25   | 50   | 75   | 100  |        |                        | L <sup>2</sup> | Q <sup>3</sup> | C <sup>4</sup> |
| <b>Altura (cm)</b>            |      |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0                             | 29,5 | 68,7 | 75,5 | 62,0 | 58,9 b |                        |                |                |                |
| 75                            | 30,6 | 73,3 | 98,8 | 86,3 | 72,3 a |                        |                |                |                |
| Média <sup>5</sup>            | 30,0 | 71,0 | 87,2 | 74,1 |        | 26,67                  | 0,000          | 0,000          | 0,875          |
| <b>Número de folhas vivas</b> |      |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0                             | 10   | 25   | 32   | 24   | 23     |                        |                |                |                |
| 75                            | 14   | 25   | 36   | 33   | 27     |                        |                |                |                |
| Média <sup>6</sup>            | 12   | 25   | 34   | 28   |        | 29,03                  | 0,000          | 0,001          | 0,367          |
| <b>Número de ramificações</b> |      |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0                             | 20   | 36   | 56   | 49   | 40,2   |                        |                |                |                |
| 75                            | 32   | 30   | 39   | 32   | 33,2   |                        |                |                |                |
| Média                         | 26   | 33   | 47   | 40,5 |        | 41,59                  | 0,024          | 0,207          | 0,241          |
| <b>Diâmetro do caule (mm)</b> |      |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0                             | 5,5  | 5,4  | 5,8  | 4,4  | 5,3    |                        |                |                |                |
| 75                            | 5,7  | 5,1  | 5,0  | 6,3  | 5,5    |                        |                |                |                |
| Média                         | 5,6  | 5,3  | 5,4  | 5,3  |        | 20,12                  | 0,730          | 0,705          | 0,738          |

Médias seguidas por letras diferentes diferem na coluna (  $P < 0,05$  ) pelo teste F. <sup>1</sup>Coeficiente de variação, <sup>2</sup>L - linear, <sup>3</sup>Q = quadrático, <sup>4</sup>C = cubico. Equação de regressão:  ${}^5\hat{Y} = -0,0216x^2 + 3,2936x - 39,002$  ( $R^2 = 0,99$ );  ${}^6\hat{Y} = -0,0076x^2 + 1,178x - 13,25$  ( $R^2 = 0,97$ ).

O regime hídrico aumenta de forma quadrática a altura da planta e comprimento e largura do folíolo, assim como, número de folhas vivas e comprimento do pecíolo. O nitrogênio promove aumento da altura e em interação com o regime hídrico, aumenta o comprimento e largura da folha.

O estresse afetou principalmente a folha, de forma que reduziu seu tamanho e conseqüentemente a área transpirável, além de reduzir o número de folhas, o que pode ser uma estratégia adaptativa. A redução da altura da planta e do comprimento do pecíolo mostrou as conseqüências da falta de água sobre o crescimento. Ao mesmo

tempo, o efeito quadrático de forma a ter melhores resultados em torno de 75% CC, pode indicar melhores condições de cultivo e melhor adaptação em condições hídricas pouco abaixo da capacidade de campo. Além disso, o nitrogênio somente é efetivo em presença de boa hidratação.

Tabela 9 – Efeito do regime hídrico e do nitrogênio sobre o comprimento do folíolo, largura do folíolo e pecíolo de *Pueraria phaseoloide*

| Kg /há<br>de N                     | CC    |       |       |       | Média | CV <sup>1</sup><br>(%) | Valor P        |                |                |
|------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|------------------------|----------------|----------------|----------------|
|                                    | 25    | 50    | 75    | 100   |       |                        | L <sup>2</sup> | Q <sup>3</sup> | C <sup>4</sup> |
| <b>Comprimento do folíolo (cm)</b> |       |       |       |       |       |                        |                |                |                |
| 0                                  | 4,2 a | 4,6 a | 5,3 a | 4,1 b | 4,5   | 21,98                  | 0,872          | 0,122          | 0,339          |
| 75 <sup>5</sup>                    | 3,6 a | 4,5 a | 5,6 a | 6,1 a | 4,9   | 12,17                  | 0,000          | 0,493          | 0,474          |
| Média                              | 3,9   | 4,5   | 5,5   | 5,1   |       |                        |                |                |                |
| <b>Largura do folíolo (cm)</b>     |       |       |       |       |       |                        |                |                |                |
| 0 <sup>6</sup>                     | 3,8 a | 4,6 a | 5,4 a | 4,2 a | 4,5   | 14,50                  | 0,192          | 0,010          | 0,168          |
| 75 <sup>7</sup>                    | 3,3 a | 4,5 a | 5,5 a | 6,4 b | 4,9   | 13,53                  | 0,000          | 0,686          | 0,930          |
| Média                              | 3,6   | 4,5   | 5,5   | 5,3   |       |                        |                |                |                |
| <b>Pecíolo (cm)</b>                |       |       |       |       |       |                        |                |                |                |
| 0                                  | 4,9   | 6,8   | 8,2   | 6,2   | 6,5   |                        |                |                |                |
| 75                                 | 5,0   | 8,2   | 8,2   | 8,6   | 7,5   |                        |                |                |                |
| Média <sup>8</sup>                 | 4,9   | 7,5   | 8,2   | 7,4   |       | 21,91                  | 0,002          | 0,004          | 0,917          |

Médias seguidas por letras diferentes diferem na coluna (  $P < 0,05$  ) pelo teste F. <sup>1</sup>Coeficiente de variação, <sup>2</sup>L - linear, <sup>3</sup>Q = quadrático, <sup>4</sup>C = cubico. Equação de regressão:  ${}^5\hat{Y} = 0,0344x + 2,8$  ( $R^2 = 0,98$ );  ${}^6\hat{Y} = -0,0008x^2 + 0,1087x + 1,5075$  ( $R^2 = 0,84$ );  ${}^7\hat{Y} = 0,0405x + 2,455$  ( $R^2 = 0,99$ );  ${}^8\hat{Y} = -0,0014x^2 + 0,2036x + 0,75$  ( $R^2 = 0,99$ ).

Após o estresse, o solo foi reidratado, mantendo próximo à capacidade de campo por um período de 15 dias, quando foi verificada que a massa seca de folha (MSF) apresentou efeito quadrático para regime hídrico ( $P < 0,05$ ), no entanto, não houve efeito significativo para nitrogênio e interação significativa entre essas variáveis (Tabela 10). A produção máxima de folhas estimada foi de 37,84g por vaso em 74,83% da capacidade de campo (CC). Os baixos valores de MSF nas plantas que estiveram sob deficiência hídrica se devem a queda em função do estresse.

Para massa seca de caule (MSC) e massa seca de raiz (MSR), não houve efeito da interação ( $P > 0,05$ ). No entanto, verificou-se um efeito quadrático do regime hídrico,

tendo produção máxima de 25,25 g de caule e 28,49 g de raiz em regimes hídricos de 70,54 e 83,17% CC, respectivamente. Houve efeito significativo do nitrogênio ( $P < 0,05$ ), sendo, respectivamente superando em, 30 e 42% de produção com adubação de nitrogênio.

Tabela 10 – Efeito do regime hídrico e do nitrogênio sobre a massa seca de folhas verdes, massa seca do caule, razão folha/caule, massa seca da raiz, razão parte aérea/raiz de *Pueraria phaseoloide*

| Kg /há<br>de N                       | CC   |      |      |      | Média  | CV <sup>1</sup><br>(%) | Valor P        |                |                |
|--------------------------------------|------|------|------|------|--------|------------------------|----------------|----------------|----------------|
|                                      | 25   | 50   | 75   | 100  |        |                        | L <sup>2</sup> | Q <sup>3</sup> | C <sup>4</sup> |
| <b>Massa seca de folhas (g/vaso)</b> |      |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0                                    | 6,09 | 26,6 | 33,4 | 19,0 | 21,2   | 43,71                  |                |                |                |
| 75                                   | 2,20 | 25,3 | 48,6 | 36,8 | 28,2   |                        |                |                |                |
| Média <sup>5</sup>                   | 4,14 | 26,0 | 41,0 | 27,9 |        |                        | 0,000          | 0,000          | 0,227          |
| <b>Massa seca de caule (g/vaso)</b>  |      |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0                                    | 6,79 | 17,8 | 20,9 | 12,3 | 14,4 b | 32,70                  |                |                |                |
| 75                                   | 6,70 | 20,3 | 34,1 | 21,3 | 20,6 a |                        |                |                |                |
| Média <sup>6</sup>                   | 6,75 | 19,1 | 27,5 | 16,7 |        |                        | 0,000          | 0,000          | 0,105          |
| <b>Razão folha/Caule</b>             |      |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0                                    | 0,94 | 1,48 | 1,56 | 1,64 | 1,42   | 24,90                  |                |                |                |
| 75                                   | 0,35 | 1,24 | 1,42 | 1,71 | 1,18   |                        |                |                |                |
| Média <sup>7</sup>                   | 0,65 | 1,36 | 1,51 | 1,67 |        |                        | 0,000          | 0,024          | 0,262          |
| <b>Massa seca de raiz (g/vaso)</b>   |      |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0                                    | 8,62 | 17,2 | 21,6 | 15,9 | 15,8 b | 43,22                  |                |                |                |
| 75                                   | 9,27 | 28,8 | 33,0 | 38,4 | 27,3 a |                        |                |                |                |
| Média <sup>8</sup>                   | 8,94 | 23,0 | 27,3 | 27,1 |        |                        | 0,000          | 0,041          | 0,722          |
| <b>Razão parte aérea/Raiz</b>        |      |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0                                    | 1,60 | 2,23 | 2,21 | 1,82 | 1,96 a | 23,44                  |                |                |                |
| 75                                   | 1,04 | 1,48 | 2,31 | 1,38 | 1,55 b |                        |                |                |                |
| Média <sup>9</sup>                   | 1,32 | 1,86 | 2,26 | 1,60 |        |                        | 0,067          | 0,000          | 0,165          |

Médias seguidas por letras diferentes diferem na coluna ( $P < 0,05$ ) pelo teste F. <sup>1</sup>Coefficiente de variação, <sup>2</sup>L - linear, <sup>3</sup>Q = quadrático, <sup>4</sup>C = cubico. Equação de regressão: <sup>5</sup> $\hat{Y} = -0,014x^2 + 2,0952x - 40,55$ , ( $R^2 = 0,96$ ); <sup>6</sup> $\hat{Y} = -0,0093x^2 + 1,3121x - 21,025$ , ( $R^2 = 0,94$ ); <sup>7</sup> $\hat{Y} = -0,0002x^2 + 0,0403x - 0,1925$ , ( $R^2 = 0,97$ ); <sup>8</sup> $\hat{Y} = -0,0057x^2 + 0,9482x - 10,94$ , ( $R^2 = 0,99$ ); <sup>9</sup> $\hat{Y} = -0,0005x^2 + 0,065x - 0,05$ , ( $R^2 = 0,91$ ).

Em ensaio semelhante, Lopes et al. (2011) observaram que o nitrogênio promoveu esse aumento, evidenciando que plantas forrageiras em condições hídricas ideais e estimuladas por meio da adubação nitrogenada, geralmente expressam seu potencial de produção.

A distribuição do sistema radicular em profundidade, devido a insuficiência hídrica, é considerada como parâmetro indicador de intolerância a seca e pode conferir adaptação em algumas espécies (BRAGA et al., 1999).

Tabela 11 – Efeito do regime hídrico e do nitrogênio sobre o volume de raiz, número de nódulos e massa seca de nódulos de *Pueraria phaseoloide*

| Kg /há<br>de N                        | CC   |       |       |       | Média | CV <sup>1</sup><br>(%) | Valor P        |                |                |
|---------------------------------------|------|-------|-------|-------|-------|------------------------|----------------|----------------|----------------|
|                                       | 25   | 50    | 75    | 100   |       |                        | L <sup>2</sup> | Q <sup>3</sup> | C <sup>4</sup> |
| <b>Volume de raiz (ml)</b>            |      |       |       |       |       |                        |                |                |                |
| 0                                     | 58,0 | 172,0 | 205,5 | 138,1 | 138,1 | 40,11                  |                |                |                |
| 75                                    | 55,0 | 167,5 | 195,0 | 225,5 | 168,2 |                        |                |                |                |
| Média <sup>5</sup>                    | 56,5 | 169,7 | 200,2 | 186,0 |       |                        | 0,000          | 0,007          | 0,697          |
| <b>Número de nódulos</b>              |      |       |       |       |       |                        |                |                |                |
| 0                                     | 32,5 | 166,5 | 244,5 | 103,5 | 136,7 | 47,77                  |                |                |                |
| 75                                    | 9,0  | 113,5 | 299,0 | 218,5 | 160,0 |                        |                |                |                |
| Média <sup>6</sup>                    | 20,7 | 140,0 | 271,0 | 161,0 |       |                        | 0,000          | 0,000          | 0,032          |
| <b>Massa seca de nódulos (g/vaso)</b> |      |       |       |       |       |                        |                |                |                |
| 0                                     | 0,34 | 3,23  | 3,85  | 1,94  | 2,34  | 42,57                  |                |                |                |
| 75                                    | 0,12 | 1,92  | 3,62  | 3,38  | 2,26  |                        |                |                |                |
| Média <sup>7</sup>                    | 0,23 | 2,57  | 3,73  | 2,66  |       |                        | 0,000          | 0,000          | 0,509          |

Médias seguidas por letras diferentes diferem na coluna (  $P < 0,05$  ) pelo teste F. <sup>1</sup>Coeficiente de variação, <sup>2</sup>L - linear, <sup>3</sup>Q = quadrático, <sup>4</sup>C = cubico. Equação de regressão  ${}^5\hat{Y} = -0,051x^2 + 8,051x - 111$ ,  $R^2 = (0,99)$ ;  ${}^6\hat{Y} = -0,0027x^3 + 0,4138x^2 - 14,47x + 166$ ,  $(R^2 = 1)$ ;  ${}^7\hat{Y} = -0,0014x^2 + 0,2043x - 4,0775$ ,  $(R^2 = 0,99)$ .

A redução do crescimento, seja pela menor taxa de crescimento ou pela senescência e morte de órgãos fica evidente nas plantas em baixas condições hídricas. O efeito quadrático do regime hídrico em quase todos os parâmetros demonstra a melhor adaptação dessas plantas em condições hídricas abaixo da capacidade de campo.

O nitrogênio, na dose utilizada, favorece o crescimento em boas condições hídricas e não afeta a nodulação. A nodulação na utilização de leguminosas em

consórcio é importante devido a produção de N para ser utilizado para produção pela outra planta, como uma medida que aumentaria a produção sem acrescentar custo na produção de forragem.

A razão folha/caule (F/C) e parte aérea/raiz (PA/R) foram influenciadas ( $P < 0,05$ ) de forma quadrática pelo regime hídrico e pela presença de N para PA/R (Tabela 10), apresentando para as plantas adubadas com N, uma redução na razão PA/R de 20% em relação aquelas sem adubação. Essa redução se deve pelo aumento na produção de raiz com a adubação nitrogenada, demonstrando assim a contribuição do nitrogênio para a raiz.

Em condições de estresse hídrico, aumenta a razão entre massa seca da raiz e massa seca da parte aérea, e esse aumento é derivado de redução do crescimento foliar que ocorre antes de reduzir a taxa fotossintética resultando num excesso de carboidratos para raiz (PINTO et al., 2008).

O volume de raiz (Vraiz) variou de forma quadrática para regime hídrico, onde o maior volume (206,73 mL) foi encontrado em 78,93 % CC. O número de nódulos variou de forma cubica para regime hídrico e não foi significativo para nitrogênio e interação. A massa seca de nódulos variou de forma quadrática para regime hídrico tendo maior massa numa capacidade de campo de 72,96% produzindo uma massa de 3,37 g. Mostrando assim que o nitrogênio, na dose utilizada, não teve efeito nos nódulos não reduzindo seu número nem tamanho e nem interferindo na fixação biológica do nitrogênio.

Os resultados indicam a influência positiva do N e da necessidade de água pela planta para manter o crescimento e utilização desse nutriente, quando em condições hídricas ideais, a adubação nitrogenada estimula as plantas forrageiras a expressar seu potencial, sendo mostrado também que as plantas não toleram ambientes úmidos, diminuindo a sua produção nesses locais.





Figura 5 - *Pueraria phaseoloide* após a reidratação, não adubada com nitrogênio e submetida à diferentes regimes hídricos (25, 50, 75 e 100% da capacidade de campo (CC)) por um período de reidratação de 12 dias (29.º ao 40.º dia).



Figura 6- *Pueraria phaseoloide* após a reidratação, adubada com nitrogênio e submetida à regimes hídricos de 25 % da capacidade de campo CC por um período de reidratação de 12 dias (29.º ao 40.º dia).

Para área foliar (AF), razão área foliar (RAF) e razão peso foliar (RPF) não houve efeito da interação ( $P < 0,05$ ) (Tabela 12). No entanto, o regime hídrico influenciou na AF, sendo encontrada máxima área foliar, de 7108 cm<sup>2</sup> em regime hídrico de 72% CC, assim como, na RAF, tendo uma razão máxima de 78,26 em 71% CC e na RPF, onde obteve-se 0,400 em uma capacidade de campo de 74 %. A presença da adubação nitrogenada reduziu significativamente ( $P < 0,05$ ) as RAF e RPF.

Em ambientes com menor disponibilidade hídrica, verifica-se diminuição no tamanho dos estômatos, para que haja uma menor perda de água da planta para o

ambiente pela transpiração, havendo o simultâneo aumento de sua densidade, contribuindo para o equilíbrio das trocas gasosas (BATISTA et al.,2010). Esses fatores podem compensar a perda de área foliar que é comum em plantas sob estresse hídrico, como relatado por Pinto et al. (2008) e Mendes et al. (2007), que verificaram uma redução na área foliar e número de folhas de diferentes espécies sob estresse hídrico.

Tabela 12 – Efeito do regime hídrico e do nitrogênio sobre a área foliar, razão área foliar, razão de peso foliar, e área foliar específica de *Pueraria phaseoloide*

| Kg de N/há                                       | CC    |       |       |       | Média  | CV <sup>1</sup><br>(%) | Valor P        |                |                |
|--|-------|-------|-------|-------|--------|------------------------|----------------|----------------|----------------|
|  | 25    | 50    | 75    | 100   |        |                        | L <sup>2</sup> | Q <sup>3</sup> | C <sup>4</sup> |
| <b>Área foliar (cm<sup>2</sup>)</b>              |       |       |       |       |        |                        |                |                |                |
| 0  | 1205  | 5278  | 6145  | 3781  | 4102   | 48,30                  |                |                |                |
| 75   | 692   | 5082  | 9097  | 5581  | 5113   |                        |                |                |                |
| Média <sup>5</sup>                               | 948   | 5180  | 7621  | 4681  |        |                        | 0,002          | 0,000          | 0,333          |
| <b>Razão área foliar (cm<sup>2</sup>/g)</b>      |       |       |       |       |        |                        |                |                |                |
| 0  | 50,6  | 83,0  | 74,6  | 80,0  | 72,0 a | 26,73                  |                |                |                |
| 75   | 35,7  | 63,1  | 77,6  | 52,0  | 57,1 b |                        |                |                |                |
| Média <sup>6</sup>                               | 43,2  | 73,0  | 76,1  | 66,0  |        |                        | 0,029          | 0,004          | 0,628          |
| <b>Razão de peso foliar</b>                      |       |       |       |       |        |                        |                |                |                |
| 0  | 0,25  | 0,41  | 0,42  | 0,39  | 0,37 a | 17,29                  |                |                |                |
| 75   | 0,16  | 0,32  | 0,40  | 0,36  | 0,31 b |                        |                |                |                |
| Média <sup>7</sup>                               | 0,20  | 0,36  | 0,41  | 0,38  |        |                        | 0,000          | 0,000          | 0,738          |
| <b>Área foliar específica (cm<sup>2</sup>/g)</b> |       |       |       |       |        |                        |                |                |                |
| 0  | 193,4 | 202,8 | 178,7 | 201,2 | 194,0  | 19,94                  |                |                |                |
| 75   | 215,1 | 192,1 | 193,4 | 140,1 | 185,1  |                        |                |                |                |
| Média  | 204,2 | 197,5 | 186,0 | 170,6 |        |                        | 0,079          | 0,751          | 0,999          |

Médias seguidas por letras diferentes diferem na coluna (  $P < 0,05$  ) pelo teste F. <sup>1</sup>Coefficiente de variação, <sup>2</sup>L - linear, <sup>3</sup>Q = quadrático, <sup>4</sup>C = cubico. Equação de regressão:  ${}^5\hat{Y} = -2,8683x^2 + 413,1x - 7765,4$ , ( $R^2 = 0,97$ );  ${}^6\hat{Y} = -0,016x^2 + 2,2837x - 3,225$ , ( $R^2 = 0,98$ );  ${}^7\hat{Y} = -8E-05x^2 + 0,0119x - 0,0415$ , ( $R^2 = 0,99$ ).

Na reidratação os teores de prolina foram influenciados significativamente apenas pela presença de N ( $P < 0,05$ ), sendo maiores para adubadas com 75 kg de N/ha (Tabela 13). Kavi Kishor et al. (2005) indicaram que a prolina promove a

desintoxicação do excesso de amônia, estabiliza proteínas, elimina radicais livres, e atua também como reserva de carbono e nitrogênio utilizado na recuperação pós-estresse.

Tabela 13 – Efeito do regime hídrico e do nitrogênio na reidratação, sobre o teor de prolina de *Pueraria phaseoloides*.

| Kg /ha<br>de N                   | CC   |      |      |      | Média  | CV <sup>1</sup><br>(%) | Valor P        |                |                |
|----------------------------------|------|------|------|------|--------|------------------------|----------------|----------------|----------------|
|                                  | 25   | 50   | 75   | 100  |        |                        | L <sup>2</sup> | Q <sup>3</sup> | C <sup>4</sup> |
| <b>Prolina (mg prolina/g MS)</b> |      |      |      |      |        |                        |                |                |                |
| 0                                | 0,80 | 0,72 | 0,74 | 0,75 | 0,75 b | 11,49                  |                |                |                |
| 75                               | 0,90 | 0,76 | 0,93 | 0,77 | 0,84 a |                        |                |                |                |
| Média <sup>5</sup>               | 0,85 | 0,74 | 0,84 | 0,76 |        |                        | 0,362          | 0,730          | 0,017          |

Médias seguidas por letras diferentes diferem na coluna (  $P < 0,05$  ) pelo teste F .<sup>1</sup>Coeficiente de variação, <sup>2</sup>L - linear, <sup>3</sup>Q = quadrático, <sup>4</sup>C = cubico.

Os conteúdos de clorofila a, carotenoides e relação a/b não apresentaram efeito da interação a nem influência do regime hídrico e do nitrogênio ( $P < 0,05$ ) (Tabela 14).

Para clorofila b e totais houve um aumento significativo quando a capacidade de campo foi de 25% tendo um aumento de 2,2 e 1,65 vezes mais clorofila quando adubado com N. Evidentemente a presença de nitrogênio contribuiu com o aumento de clorofila nas folhas e, conseqüentemente, influenciou de forma efetiva na taxa fotossintética.

A concentração de clorofila ou o enverdecimento das folhas se correlaciona positivamente com a concentração foliar de nitrogênio, uma vez que 70% do N contido nas folhas está nos cloroplastos (WOOD et al., 1993). Corroborando com Sales *et al.* (2013) em estudos com *Arachis pintoii* submetido a estresse hídrico e adubação nitrogenada, constaram que altas doses de nitrogênio em baixa disponibilidade hídrica promovem aumento nos teores de clorofila a e b, bem como níveis mais elevados de sacarose nas raízes, fatores que afetam especialmente o desenvolvimento da parte aérea.

Tabela 14 - Efeito do regime hídrico e do nitrogênio na reidratação, sobre o teor de Clorofila *a*, Clorofila *b*, Clorofila totais, carotenoides e razão clorofilas *a/b* de *Pueraria phaseoloide*

| Kg de N/há                          | CC     |        |        |        | Média  | CV <sup>1</sup><br>(%) | Valor P        |                |                |
|-------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|------------------------|----------------|----------------|----------------|
|                                     | 25     | 50     | 75     | 100    |        |                        | L <sup>2</sup> | Q <sup>3</sup> | C <sup>4</sup> |
| <b>Clorofila a (mg /g MS)</b>       |        |        |        |        |        |                        |                |                |                |
| 0                                   | 1,35   | 1,40   | 1,40   | 1,66   | 1,45   |                        |                |                |                |
| 75                                  | 1,96   | 1,02   | 1,73   | 1,35   | 1,51   |                        |                |                |                |
| Média                               | 1,65   | 1,21   | 1,57   | 1,51   |        | 29,48                  | 0,894          | 0,226          | 0,093          |
| <b>Clorofila b (mg /g MS)</b>       |        |        |        |        |        |                        |                |                |                |
| 0                                   | 0,50 b | 0,82 a | 0,59 a | 0,73 a | 0,66 b | 29,75                  | 0,327          | 0,386          | 0,061          |
| 75                                  | 1,11 a | 0,64 a | 0,94 a | 0,77 a | 0,86 a | 33,16                  | 0,278          | 0,323          | 0,073          |
| Média                               | 0,81   | 0,73   | 0,77   | 0,75   |        |                        |                |                |                |
| <b>Carotenoides (mg /g MS)</b>      |        |        |        |        |        |                        |                |                |                |
| 0                                   | 0,24   | 0,19   | 0,22   | 0,26   | 0,23   |                        |                |                |                |
| 75                                  | 0,27   | 0,11   | 0,18   | 0,17   | 0,18   |                        |                |                |                |
| Média                               | 0,25   | 0,15   | 0,20   | 0,21   |        | 33,92                  | 0,472          | 0,036          | 0,118          |
| <b>Clorofilas totais (mg /g MS)</b> |        |        |        |        |        |                        |                |                |                |
| 0                                   | 1,86 b | 2,23 a | 2,00 a | 2,40 a | 2,12   | 27,66                  | 0,310          | 0,957          | 0,371          |
| 75 <sup>5</sup>                     | 3,08 a | 1,66 a | 2,68 a | 2,12 a | 2,38   | 30,48                  | 0,276          | 0,263          | 0,030          |
| Média                               | 2,47   | 1,94   | 2,34   | 2,26   |        |                        |                |                |                |
| <b>Relação Clorofilas a/b</b>       |        |        |        |        |        |                        |                |                |                |
| 0                                   | 2,64   | 1,72   | 2,38   | 2,35   | 2,27   |                        |                |                |                |
| 75                                  | 1,78   | 1,62   | 1,81   | 1,80   | 1,75   |                        |                |                |                |
| Média <sup>6</sup>                  | 2,21   | 1,67   | 2,10   | 2,07   |        | 17,22                  | 0,999          | 0,046          | 0,016          |

Médias seguidas por letras diferentes diferem na coluna (  $P < 0,05$  ) pelo teste F. <sup>1</sup>Coeficiente de variação, <sup>2</sup>L - linear, <sup>3</sup>Q = quadrático, <sup>4</sup>C = cubico. Equação de regressão: <sup>5</sup> $\hat{Y} = -0,00004x^3 + 0,0084x^2 - 0,498x + 10,96$ , ( $R^2 = 1$ ); <sup>6</sup> $\hat{Y} = -0,0002x^3 + 0,0031x^2 - 0,1847x + 5,15$ , ( $R^2 = 1$ )

Para o conteúdo de açúcares solúveis totais (AST) nas folhas houve efeito interação ( $P < 0,05$ ) sendo que a mesma se comporta de maneira cubica para regime hídrico quando não adubada com N, tendo maiores quantidades de AST quando adubada e com os regimes hídricos de 25% de CC e 75% CC (Tabela 15).

Tabela 15 – Efeito do regime hídrico e do nitrogênio na reidratação sobre Açúcares solúveis totais (AST) nas folhas de *Pueraria phaseoloide*

| Kg /ha<br>de N                                | CC     |        |        |        | Média  | CV <sup>1</sup><br>(%) | Valor P        |                |                |
|---|--------|--------|--------|--------|--------|------------------------|----------------|----------------|----------------|
|   | 25     | 50     | 75     | 100    |        |                        | L <sup>2</sup> | Q <sup>3</sup> | C <sup>4</sup> |
| <b>Açúcares solúveis totais (mg AST/g MS)</b> |        |        |        |        |        |                        |                |                |                |
| 0 <sup>5</sup>                                | 45,9 b | 64,0 a | 52,1 b | 49,2 a | 52,8 b | 11,95                  | 0,794          | 0,002          | 0,017          |
| 75  | 75,5 a | 58,5 a | 77,5 a | 64,1 a | 68,9 a | 22,74                  | 0,397          | 0,369          | 0,213          |
| Média   | 60,7   | 61,27  | 64,85  | 56,6   |        |                        |                |                |                |

Médias seguidas por letras diferentes diferem na coluna ( P < 0,05 ) pelo teste F .<sup>1</sup>Coeficiente de variação, <sup>2</sup>L - linear, <sup>3</sup>Q = quadrático, <sup>4</sup>C = cubico. Equação de regressão:  $\hat{Y} = 0,0004x^3 - 0,0864x^2 + 5,384x - 41,2$ , (R<sup>2</sup> = 1)

Tabela 16 – Efeito do regime hídrico e do nitrogênio na reidratação sobre Açúcares solúveis totais (AST) e amido no caule de *Pueraria phaseoloide*

| Kg /ha<br>de N                                | CC     |        |        |        | Média  | CV <sup>1</sup><br>(%) | Valor P        |                |                |
|---|--------|--------|--------|--------|--------|------------------------|----------------|----------------|----------------|
|   | 25     | 50     | 75     | 100    |        |                        | L <sup>2</sup> | Q <sup>3</sup> | C <sup>4</sup> |
| <b>Açúcares solúveis totais (mg AST/g MS)</b> |        |        |        |        |        |                        |                |                |                |
| 0   | 31,6   | 50,9   | 52,1   | 47,6   | 45,6 a |                        |                |                |                |
| 75  | 31,1   | 54,5   | 80,6   | 61,6   | 56,9 b |                        |                |                |                |
| Média <sup>5</sup>                            | 31,3   | 52,7   | 66,4   | 54,6   |        | 20,07                  | 0,000          | 0,000          | 0,322          |
| <b>Amido (mg Amido/g MS)</b>                  |        |        |        |        |        |                        |                |                |                |
| 0 <sup>6</sup>                                | 13,7 a | 33,2 a | 21,3 a | 20,3 a | 22,1   | 28,17                  | 0,579          | 0,006          | 0,010          |
| 75 <sup>7</sup>                               | 7,3 a  | 24,6 b | 28,9 a | 25,8 a | 21,7   | 22,65                  | 0,000          | 0,001          | 0,614          |
| Média   | 10,5   | 28,9   | 25,1   | 23,9   |        |                        |                |                |                |

Médias seguidas por letras diferentes diferem na coluna ( P < 0,05 ) pelo teste F .<sup>1</sup>Coeficiente de variação, <sup>2</sup>L - linear, <sup>3</sup>Q = quadrático, <sup>4</sup>C = cubico. Equação de regressão:  $\hat{Y} = -0,0133x^2 + 1,9944x - 11,15$ , ( R<sup>2</sup> = 0,97);  $\hat{Y} = 0,0005x^3 - 0,0928x^2 + 5,766x - 79,5$ , (R<sup>2</sup> = 1);  $\hat{Y} = -0,0082x^2 + 1,2592x - 18,8$ , (R<sup>2</sup> = 0,99)

Para açúcares solúveis totais no caule não houve efeito da interação (P>0,05), para nitrogênio houve efeito significativo, tendo menores concentrações nos caules de plantas não adubadas com N. O regime hídrico aumenta de forma quadrática a concentração (Tabela 16). Para o amido, a interação foi significativa no caule, onde o regime hídrico apresentou efeito cúbico para plantas não adubadas e quadrático para plantas adubadas, a sua concentração foi maior para plantas não adubadas quando a capacidade de campo de 50%.

Na raiz os açúcares solúveis totais e amido não houve interação significativa ( $P > 0,05$ ) (Tabela 17). Da mesma forma não houve efeito significativo para nitrogênio e capacidade de campo para os açúcares totais. O amido foi significativo para capacidade de campo sendo de forma quadrática.

Tabela 17 – Efeito do regime hídrico e do nitrogênio no estresse sobre Açúcares solúveis totais (AST) e amido na raiz de *Pueraria phaseoloide*

| Kg de<br>N/há                                 | CC   |      |      |      | Média | CV <sup>1</sup><br>(%) | Valor P        |                |                |
|---|------|------|------|------|-------|------------------------|----------------|----------------|----------------|
|   | 25   | 50   | 75   | 100  |       |                        | L <sup>2</sup> | Q <sup>3</sup> | C <sup>4</sup> |
| <b>Açúcares solúveis totais (mg AST/g MS)</b> |      |      |      |      |       |                        |                |                |                |
| 0   | 33,3 | 35,2 | 34,5 | 29,0 | 33,0  |                        |                |                |                |
| 75  | 22,9 | 24,9 | 34,3 | 27,9 | 27,5  |                        |                |                |                |
| Média   | 28,1 | 30,1 | 34,4 | 28,4 |       | 23,86                  | 0,612          | 0,200          | 0,309          |
| <b>Amido (mg Amido/g MS)</b>                  |      |      |      |      |       |                        |                |                |                |
| 0   | 9,7  | 14,0 | 12,5 | 11,8 | 12,0  |                        |                |                |                |
| 75  | 4,3  | 10,2 | 18,3 | 13,6 | 11,6  |                        |                |                |                |
| Média <sup>5</sup>                            | 7,03 | 12,1 | 15,4 | 12,7 |       | 37,38                  | 0,009          | 0,041          | 0,729          |

Médias seguidas por letras diferentes diferem na coluna ( $P < 0,05$ ) pelo teste F. <sup>1</sup>Coefficiente de variação, <sup>2</sup>L - linear, <sup>3</sup>Q = quadrático, <sup>4</sup>C = cubico. Equação de regressão:  ${}^5\hat{Y} = -0,0031x^2 + 0,4697x - 2,9825$ , ( $R^2 = 0,97$ )

## VII – CONCLUSÕES

A adubação nitrogenada é uma boa alternativa para a implantação de *Pueraria phaseoloides* no campo, pois além de favorecer em maior produção de massa, não afeta a produção dos nódulos. Além disso, essas plantas têm uma maior tolerância e recuperação ao estresse quando adubadas com nitrogênio, por estarem fisiologicamente mais fortes.

A *Pueraria phaseoloides* demonstra ser uma planta que tem preferência por uma hidratação do solo abaixo da capacidade de campo, por volta de 75%. E, quando é submetida a um estresse hídrico, apresenta características de adaptação como mecanismos de sobrevivência, reduzindo o número de folhas para um melhor controle de transpiração e promovendo alterações metabólicas em função de um ajuste osmótico.

## VIII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL JALEEL, C.; MANIVANNAN, P.; KISHOREKUMAR, A.; SANKAR, B.; GOPI, R.; SOMASUNDARAM, R.; PANEERSELVAM, R. Alterations in osmoregulation, antioxidante enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water defi cit. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.59,v p.150-157, 2007.

ALVAREZ V., V.H.; RIBEIRO, A.C. Calagem. In: Comissão de fertilidade do solo do estado de minas gerais (CFSMG). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. 5ª aproximação, Viçosa, 1999, p.41-60.

ARAÚJO, S.A.C.; DEMINICIS, B.B. Fotoinibição da fotossíntese. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.7, n.4, p.463-472, 2009.

ARNON, D. I. Cooper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Bet vulgaris*. **Plant Physilogy**, v.24, n.1, p.1-15, 1949.

BAJJI, M.; LUTTS, S.; KINET, J-M. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. **Plant Science**. 160, 669–681, 2001.

BARRS, H. D. Determination of water deficits in plant tissues. *Water deficits and plant growth*, vol 1. Academic Press, New Delhi, 1968.

BATES, L. S. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short Communication. **Plant and Soil**, v.39, n.1, p.205-207, 1973.

BATISTA, L. A. et al. Anatomia foliar e potencial hídrico na tolerância de cultivares de café ao estresse hídrico. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 41, n. 3, p. 475-481, 2010.

Braga,M,B.; RAMOS, M,M.; GOMIDE,R,L. Influência de quatro frequências de irrigação na distribuição radicular, em três estágios de desenvolvimento da cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris L,cv. Carioca*), **Irriga**, v.04, n. 03, p. 175-182, 1999.

CAIRO, P.A.R., OLIVEIRA; L.E.M. de; MESQUITA, A.C. **Análise de Crescimento de Plantas**. Vitória da Conquista: Edições UESB, 2008. Cap. 5.

CARVALHO, L. M.; CASALI, V. W. D.; SOUZA, M. A.; CECON, P. R. Disponibilidade de água no solo e crescimento de *Artemísia*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 4. p. 726-730, 2003.

CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia Vegetal: Estrutura e Funcao de Orgaos Vegetativos**. Lavras: UFLA, 2009. 234 p.



Chylinski W.K., A. J. Łukaszewska and K. Kutnik. Drought response of two beddingplants. **Acta Physiologiae Plantarum**. 29(5):399-406, 2007.

DISCHE, Z. General color reactions. In: WHISTLER, R. L.; WOLFRAM, M. L. **Carbohydrate chemistry**. New York: Academic Press, 1962. p.477-520.

FAUST, M. Physiology of temperate zone fruit trees. **New York: John Wiley & Sons**, 1989. 338p.

HARE, P. D.; CRESS, W. A.; VAN STANDEN, J. Proline synthesis and degradation: a model for elucidating stress related signal transduction. **Journal of Experimental Botany**. 50: 413-434,1999.

HAVAUX M, TARDY F. Loss of chlorophyll with limited reduction of photosynthesis as an adaptive response of Syrian barley landraces to high-light and heat stress. **Australian Journal of Plant Physiology** 26: 569–578, 1999.

KAVI KISHOR P. B; SANGAM S.; AMRUTHA R. N.; SRI LAXMI P.; NAIDU K. R.; RAO K. R. S.; RAO S.; REDDY K. J.; THERIAPPAN P.; SREENIVASULU N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**. 88: 424-438, 2005.

LOPES, W.B.; CARVALHO, G.G.P. de; PATÊS, N.M. da S. et al. Dinâmica, produção e qualidade da *Brachiaria brizantha* submetida a regime hídrico e adubação nitrogenada. **Revista Brasileira Saúde e Produção Animal**,v.12, n.1, p.43-58, 2011.

MAIA, P. S. P.; NETO, C. F. O.; CASTRO, D. S.; FREITAS, J. M. N.; LOBATO, A. K. S.; COSTA, R. C. L. C. Conteúdo relativo de água, teor de prolina e carboidratos solúveis totais em folhas de duas cultivares de milho submetidas a estresse hídrico. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, supl.2, p.918-920, 2007.

MARIN, A.; SANTOS, D.M.M.; BANZATTO, D.A.; CODOGNOTO, L.M. Influence of water availability and soil acidity on the level of free proline in pigeon pea. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v. 41, p. 355-358, 2006.

MENDES, R. M. S. et al. Relações fonte-dreno em feijão- de-corda submetido à deficiência hídrica. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 38, n. 01, p. 95-103, 2007.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v.31, n.3, p.426-428, 1959.

PINTO, C. M. et al. Crescimento, distribuicao do sistema radicular em amendoim, gergelim e mamona a ciclos de deficiencia hidrica. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 39, n. 03, p. 429-436, 2008.

SALES, R. M. P.; FRIES, D. D.; PIRES, A. J. V.; BONO, P.; SANTOS, I. S.; CAMPOS, C. N.; BRITO, P. H. R.; BRITO, M. S. Chlorophyll and carbohydrates in *Arachis pintoi* plants under influenceofwater regimes and nitrogen fertilization. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.42, n.6, p.388-394, 2013.

WELLBURN, A. R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant Physiol.*, v. 144, n. 3, p. 307-313, 1994.

Wood CW, Reeves DW & Himelrick DJ. Relationships between chlorophyll meter readings and leaf chlorophyll concentration, N status, and crop yield: a review. *Proceedings Agronomy Society of New Zealand* 23: 1-9, 1993.