

Resposta de Descendências de Pinheiro Bravo (*Pinus Pinaster* Ait.) ao Stress Hídrico em Condições Controladas e Comparação com Condições de Campo.

Sofia Cerasoli^{1,2}, Isabel Correia³, Alexandre Aguiar³, Maria Helena Almeida¹, Maria Manuela Chaves^{1,2} e João Santos Pereira¹

1. Instituto Superior de Agronomia, Tapada da Ajuda 1349-017 Lisboa

2. Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Aptd. 12, 2781-901 Oeiras.

3. Estação Florestal, Nacional, 2780-159 Oeiras

Introdução

Os défices hídricos são, com frequência os principais factores limitantes para o crescimento do pinheiro bravo (*Pinus Pinaster* Ait.). Na actual perspectiva de alterações climáticas, prevê-se que a ocorrência do défice hídrico venha a aumentar em frequência e intensidade. Surge portanto a exigência de estudar a resposta fisiológica de varias descendências de pinheiro bravo ao stress hídrico de modo a identificar aquelas com crescimento superior em condições de stress hídrico para que sejam aproveitadas em programas de melhoramento da espécie.

Os objectivos deste trabalho foram: (i) identificar, em diferentes proveniências de pinheiro bravo (*Pinus pinaster* Ait.) sujeitas a défice hídrico controlado, diferenças na expressão de parâmetros fisiológicos e morfológicos que possam ser utilizadas na selecção de genótipos com crescimento superior em condições de stress hídrico; (ii) verificar se as descendências que apresentaram comportamento superior no ensaio de bancada apresentavam também um crescimento superior quando sujeitas a condições de campo mais secas daquelas de origem.

A resposta ao stress hídrico foi estudada em três descendências de árvores superiores seleccionadas em locais próximos de Manteigas (BI-C e BI-M) e da Marinha Grande (BL-MM) (Figura 1, Tabela 1), sendo as duas primeiras oriundas de locais com altitude e precipitação total superiores à da Marinha Grande e de temperatura média anual inferior à deste local. As proveniências das famílias encontram-se representadas no campo experimental do Escaroupim (39° 05'N e 8° 45'W), caracterizado por um clima mais seco do que o de origem das três descendências analisadas (Figura 1, Tabela 1).

Tabela 1- Dados climáticos da Mata Nacional do Escaroupim e dos locais onde foi colhida a semente das populações em estudo (médias anuais de 1951 a 1980) (Fonte: Instituto de Meteorologia.)

	Estação meteorológica	Temperatura média anual (°C)	Média das máximas (°C)	Média das mínimas (°C)	Prec. anual (mm)	Prec max (mm)	Prec min (mm)	Nº dias geada	Altitude (m)
Mata Nacional do Escaroupim	Salvaterra de Magos	15,4	21,2	9,5	594,4	80,0 Jan	3,2 Jul	45,7	
PMA29 Manteigas	Guarda	10,4	14,2	6,8	1668,1	256,0 Dez	12,8 Ago	48,9	750
PMA30 Manteigas	Guarda	10,4	14,2	6,8	1668,1	256,0 Dez	12,8 Ago	48,9	630
PMG52 Marinha Grande	Marinha Grande	14,2	19,9	8,6	909,4	133,4 Jan	6,3 Jul	29,9	10

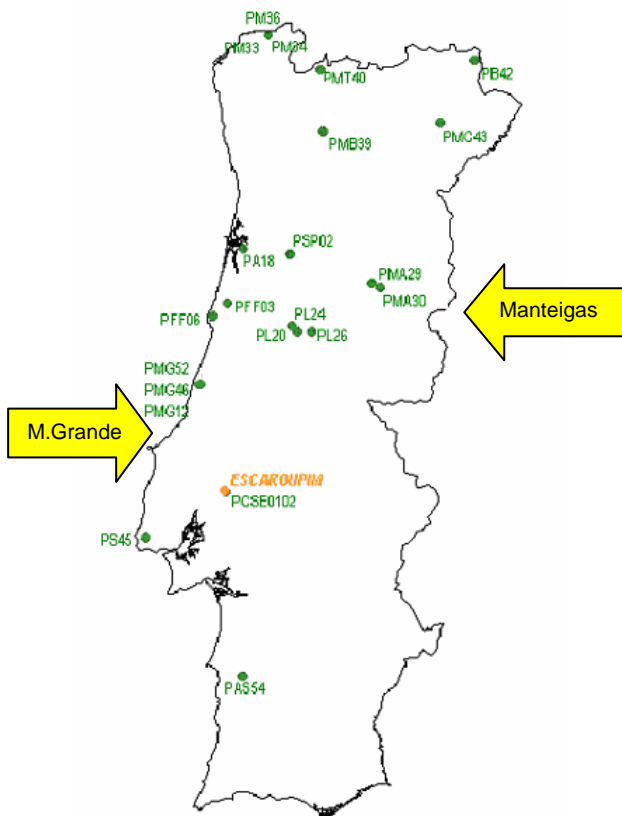


Figura 1 - Localização das proveniências nacionais em ensaio e do campo experimental da Mata Nacional do Escaroupim. As descendências do ensaio de stress hídrico, em condições controladas foram colhidas nos locais assinalados.

Ensaio em condições controladas

Materiais e Métodos

O ensaio foi realizado em condições controladas de humidade (60% HR) e temperatura (25°C dia/15°C noite) e luz próxima da natural. Foram utilizadas plantas de dois anos de idade envasadas em contentores de 4,2l preenchidos exclusivamente com areia lavada. As plantas foram sujeitas a dois regimes hídricos: plantas regadas até a capacidade de campo (C) e plantas regadas só com metade da água necessária para atingir a capacidade de campo (S). Antes do início da aplicação do tratamento de stress hídrico, as plantas foram bem regadas e deixadas drenar por um período de cerca de 16 horas. Uma vez terminado o escoamento do excesso de água o furo de drenagem dos vasos foi tapado e a superfície dos vasos selada com material plástico de modo a limitar ao máximo a evaporação do solo. O peso dos vasos foi então assumido como peso à capacidade de campo. A transpiração foi estimada a partir do peso dos vasos imediatamente antes e depois de cada rega. O potencial hídrico foliar foi medido cada cinco dias em pelo menos seis plantas por família e por tratamento.

Ao 58º dia desde o início do ensaio foram amostradas 6 plantas por tratamentos e por família. A área foliar específica (SLA) foi determinada em 2 agulhas por planta por tratamento em agulhas do ano. A área foliar projectada foi medida por meio de um planímetro electrónico portátil (Li- 3000A, Inc. Lincoln, Nebraska, USA) do lado plano da agulha (três repetições por amostra), este valor foi depois multiplicado por um factor de conversão $(1+\pi/2)$ e a área foliar total calculada assumindo que as agulhas têm forma aproximadamente semi-cilíndrica. O peso seco das agulhas foi determinado após secagem em estufa a 70°C por 48h. A área foliar específica de agulhas do ano foi também utilizada para a determinação do LAR (razão

de área foliar) que exprime a importância da área foliar em relação ao peso da planta (m^2Kg^{-1}).

Por cada planta e tratamento duas agulhas foram utilizadas para a determinação da composição isotópica do carbono ($\delta^{13}C$), após secagem em estufa a 70°C por 48h e moagem fina. As análises foram realizadas no “Scottish Crop Research Institute” (Invergowrie, Dundee, UK).

O restante material vegetal foi separado em raiz principal, raízes finas, caule principal, ramos, agulhas novas e do ano anterior. Após secagem em estufa a 70°C por 48h, foi pesado para a determinação da biomassa.

O tratamento estatístico escolhido foi um delineamento completo a dois factores (família e stress hídrico) totalmente casualizado. As diferenças entre tratamentos no seio de uma mesma família foram verificadas por meio de um teste-t. (Spss, v13).

Resultados e discussão

Ao fim de 58 dias de ensaio o regime hídrico deficitário (S) determinou uma redução significativa do potencial hídrico foliar de base em todas as descendências (Figura 2). A biomassa total das plantas não foi afectada pelas condições de stress hídrico, não se observando em nenhuma família diferenças entre os tratamentos (Tabela 2). No entanto, na família BL-MM registou-se uma diminuição da área foliar por peso (LAR) nas plantas (S) em comparação com o controlo (C). A diminuição do LAR resulta da diminuição da área foliar específica (SLA) (Tabela 2) e da menor percentagem de biomassa das agulhas novas nas plantas S que se registaram na família BL-MM (Figura 3). A composição isotópica do carbono ($\delta^{13}C$), que sabemos relacionar-se positivamente com a eficiência de uso da água (EUA) ou seja com a razão A/E (Farquhar et al. 1988), aumentou significativamente nas plantas S quando comparadas com as plantas C, de novo apenas na família BL-MM (Tabela 2). Nas plantas S, verificou-se também uma correlação positiva entre o $\delta^{13}C$ das agulhas e a biomassa aérea nas plantas S ($r^2=0,674$, $P<0,01$). Os resultados obtidos sugerem uma melhor aclimação das plantas da família BL-MM às condições de stress hídrico, face às outras famílias, obtida por meio da redução da biomassa e da área foliáres, reduzindo portanto as perdas de água por transpiração. No entanto a correlação positiva encontrada entre $\delta^{13}C$ e a biomassa aérea e o aumento significativo do $\delta^{13}C$ encontrado nas plantas S da família BL-MM sugerem uma aclimação fisiológica da fotossíntese que impediu que a redução da área foliar levasse a uma diminuição da acumulação de carbono.

Tabela 2 Biomassa total, razão biomassa aérea/biomassa radicular (Ba/Br), área foliar per peso da planta (LAR) e área foliar específica (SLA), observadas em plantas das diferentes famílias de pinheiro bravo stress (S) e controlo (C). A direita, P indica a significância a uma ANOVA a dois factores; família, stress e família X stress. * indica diferenças significativas entre os tratamentos na mesma família. (test-t, $t<0,05$).

	BI-C (Manteigas)		BI-M (manteigas)		BL-MM (Marinha Grande)		P		
	C	S	C	S	C	S	Fam.	Stress	Fam. x Stress.
Biomassa total, g	26,68 ± 2,55	28,83 ± 2,40	28,19 ± 2,83	24,99 ± 2,15	28,17 ± 1,78	27,68 ± 1,09	n.s.	n.s.	n.s.
LAR, m^2Kg^{-1}	5,55 ± 1,03	4,61 ± 0,82	5,23 ± 0,43	4,64 ± 0,45	5,78 ± 0,59	3,49 ± 0,20*	n.s.	<0.05	n.s.
SLA, m^2Kg^{-1}	14,65 ± 1,95	14,14 ± 1,87	15,06 ± 1,41	11,79 ± 1,12	15,18 ± 1,33	10,94 ± 0,98*	n.s.	<0.05	n.s.
$\delta^{13}C$	-30,2 ± 0,4	-29,4 ± 0,3	-30,2 ± 0,2	-29,8 ± 0,3	-29,9 ± 0,2	-28,8 ± 0,2**	n.s.	<0.001	n.s.

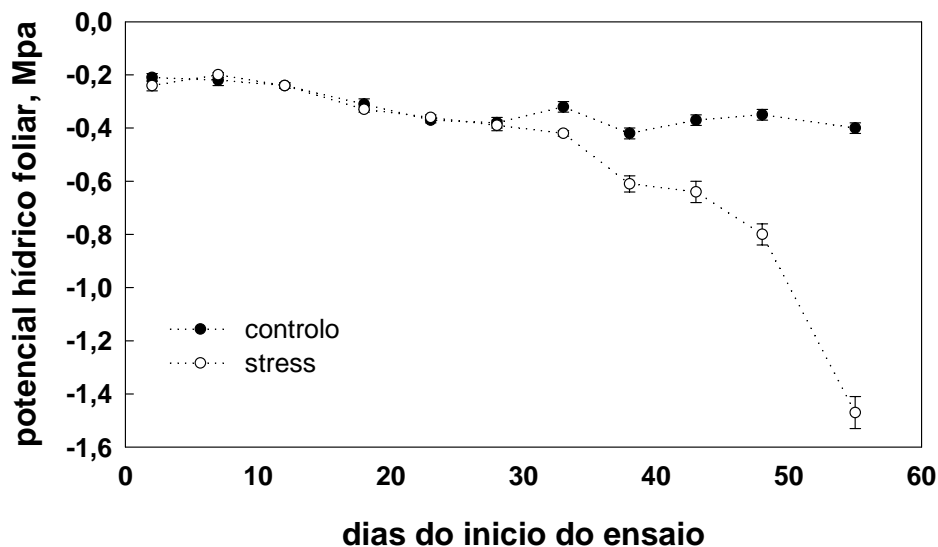


Fig. 2 – Potencial hídrico foliar, medido de madrugada, em plantas stress (símbolos abertos) e controle (símbolos fechados) ao longo do ensaio. As barras verticais indicam o erro padrão.

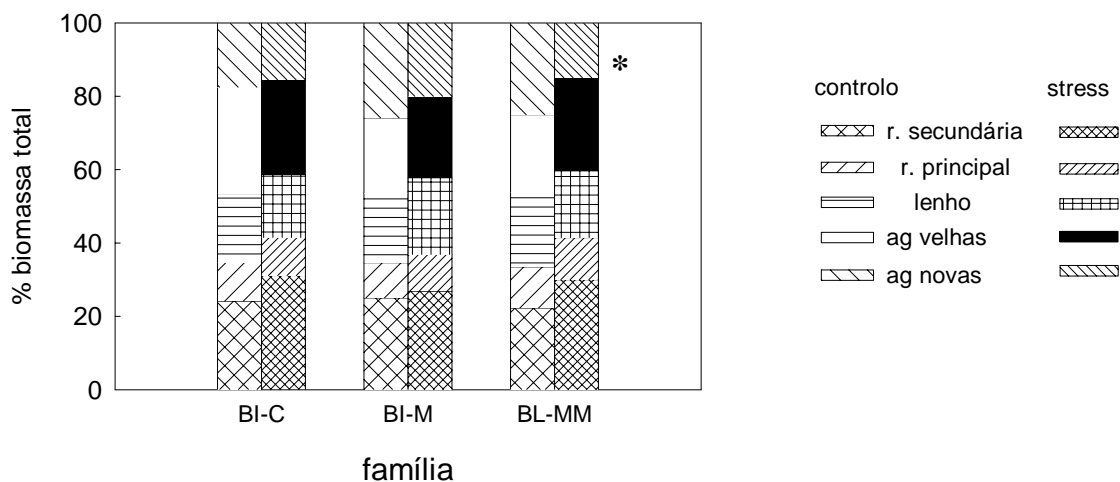


Figura 3. Partição da biomassa em três famílias de pinheiro bravo sujeita a dois regimes hídricos (controle e stress).

Ensaio de campo

Materiais e métodos

No campo experimental do Escaroupim encontram-se representadas 30 proveniências, oriundas de vários locais de Portugal, Espanha, França e Austrália (Aguiar et al., 1995), plantadas segundo um desenho experimental de 8 blocos casualizados completos, entre as quais se encontram representadas as proveniências correspondentes às descendências estudadas no ensaio em condições controladas. Em 2004, procedeu-se à medição da altura total, do diâmetro à altura do peito (Dap) e à avaliação da sobrevivência em 40 árvores por proveniência (5 árvores de cada proveniência em cada bloco), tendo as árvores 10 anos de

idade. A análise de variância recorreu às médias das 5 observações e as estimativas dos valores médios de cada proveniência foram obtidas recorrendo às médias dos mínimos quadrados das características analisadas. Foi também efectuada uma representação gráfica da análise em componentes principais (*software SAS[®] V8.2*).

Resultados

No campo não foram encontradas diferenças significativas para a altura, diâmetro e sobrevivência entre as três proveniências (Tabela 3).

Contudo evidenciou-se uma tendência para a população da Marinha Grande, onde a BL-MM foi seleccionada, ter um crescimento superior ao das outras duas no conjunto das três características analisadas, como evidenciado pela análise em componentes principais das 30 populações (Figura 4). Nesta análise os dois primeiros eixos explicam 98% da variação observada e os vectores assinalam a maior importância das variáveis altura e diâmetro na composição do 1º eixo e a maior preponderância da sobrevivência na composição do 2º eixo.

Tabela 3 – Estimativas dos valores médios observados das características nas três populações estudadas em bancada

Proveniência	Altura (m)	Diâmetro (cm)	Sobrevivência
PMA29 (Manteigas)	6,82 ± 0,20	11,3 ± 0,6	0,75 ± 0,02
PMA30 (Manteigas)	7,34 ± 0,20	12,3 ± 0,6	0,71 ± 0,02
PMG52 (Marinha Grande)	7,60 ± 0,18	12,8 ± 0,5	0,75 ± 0,02

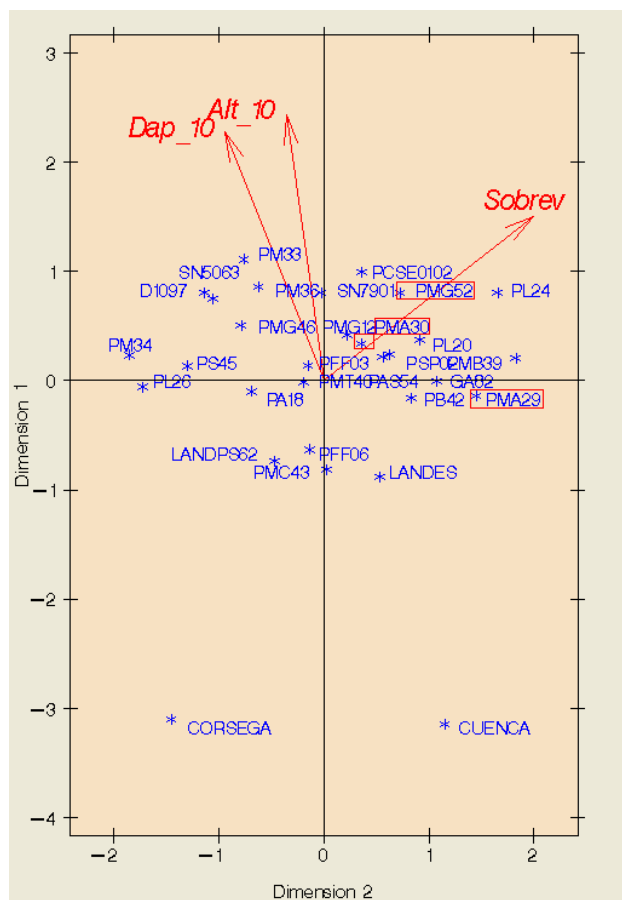


Figura 4 – Análise em componentes principais para 30 proveniências de pinheiro bravo. As variáveis consideradas foram: altura, Dap e sobrevivência aos 10 anos de idade.

Conclusões

A proximidade de comportamento observada entre as proveniências em campo parece indicar uma vez mais a proximidade genética entre populações de pinheiro bravo a nível nacional. No entanto, a tendência para uma melhor capacidade de aclimação a condições de stress hídrico observada na família BL-MM no ensaio em condições controladas, mostrou a mesma tendência em campo, em condições climáticas mais secas daquelas de origem da proveniência.

Uma relação positiva entre o $\delta^{13}\text{C}$ e a resistência ao stress hídrico já foi verificada em pinheiro bravo (Guehl et al. 1995) e foi também demonstrado que $\delta^{13}\text{C}$ pode ser utilizado para discriminar proveniências com diferente resposta ao stress hídrico (Tognetti *et al.* 2000). Sugere-se a utilização do $\delta^{13}\text{C}$ também em árvores adultas em condições de campo, para identificar proveniências com maior EUA que poderão assim revelar-se de interesse para futuros programas de melhoramento do pinheiro bravo.

Agradecimentos

Este projecto foi financiado pela FCT (BPD/14603/2003).

Referência bibliograficas

- Aguiar A, Alpuim M, Roldão M I. 1995. Ensaio de Proveniências de *Pinus pinaster* Ait. (Resultados Preliminares). *Silva Lusitana*. 3(1): 53-63.
- Farquhar, G., K.T. Hubick, A.G. Condon and R.A. Richards 1988. Carbon isotope fractionation and plant water-use efficiency. *In* Stable isotopes in ecological research Eds. P.W. Rundel, J. Ehleringer and K.A. Nagy. Springer-Verlag, New York, pp. 21-40.
- Guehl, J.M., C. Fort and A. Ferhi 1995. Differential response of leaf conductance, carbon isotope discrimination and water-use efficiency to nitrogen deficiency in maritime pine and pedunculate oak plants. *New Phytologist*. 131:149-157.
- Tognetti R, Michelozzi M, Lauteri M, Brugnoli E e Giannini R. 2000. Geographic variation in growth, carbon isotope discrimination, and monoterpene composition in *Pinus pinaster* provenances. *Can. J. For. Res.* 30: 1682-1690.