

O metabolismo do azoto na erva-marinha *Zostera noltii*

(Nitrogen metabolism in the seagrass *Zostera noltii*)

Tese de Doutoramento

Ana Isabel Delfim dos Santos Alexandre

Centro de Ciências do Mar (CCMAR), Universidade do Algarve

O metabolismo do azoto é uma componente crucial na vida das plantas. Esta tese teve como principal objetivo investigar a ecofisiologia do metabolismo do azoto da erva marinha *Zostera noltii* na Ria Formosa. No contexto atual das alterações climáticas, foi também investigado o efeito do enriquecimento em CO₂ da água do mar na fotossíntese, crescimento e metabolismo do azoto na espécie. As taxas de incorporação de amónia e nitrato foram determinadas a três concentrações diferentes destes nutrientes, suplementados simultaneamente (NH₄NO₃) ou separadamente (NH₄Cl e KNO₃). A amónia foi identificada como a forma preferencial de azoto inorgânico para a *Z. noltii*. Contudo, a espécie apresentou taxas de incorporação de nitrato consideráveis quando suplementada com uma solução de nitrato sem amónia. Este resultado sugere o nitrato como uma fonte alternativa de azoto inorgânico. O fornecimento simultâneo de ambas as formas de azoto inorgânico à *Z. noltii* aumentou as taxas de incorporação de amónia e diminuiu as de nitrato comparativamente às taxas obtidas quando apenas uma das formas azotadas foi fornecida.

As taxas de incorporação de amónia e nitrato, as interações folhas-raízes no processo de incorporação de azoto e a translocação interna de azoto incorporado foram investigadas simultaneamente. As taxas de incorporação de azoto pelas folhas e raízes foram medidas usando câmaras de incubação de dois compartimentos que separaram fisicamente a parte aérea da parte subterrânea da planta, e foram quantificadas com base na incorporação de soluções de amónia e nitrato enriquecidas com o isótopo ¹⁵N. As taxas de incorporação de amónia pelas folhas

foram uma ordem de magnitude mais elevadas do que pelas raízes, designando as folhas como a principal via de entrada de amónia na planta. Para além disso, as folhas apresentaram uma elevada afinidade para a incorporação de amónia (i.e. taxas elevadas de incorporação a concentrações muito baixas de azoto). Estas duas características demonstram que a *Z. noltii* possui capacidade não só para incorporar amónia de forma eficiente mas também para beneficiar de forma vantajosa de níveis elevados de azoto disponíveis de forma transitória na coluna de água. As folhas foram igualmente identificadas como sendo o local preferencial de redução da amónia e nitrato incorporados, tal como revelado pelas taxas mais elevadas de atividade das enzimas (nitrato redutase e glutamina sintetase) nas folhas do que as raízes. A incorporação de amónia ou nitrato por uma das partes da planta (ex. folhas) não afetou a taxa de incorporação pela outra parte (ex. raízes). Da mesma forma, não foi detetada translocação interna apreciável do azoto incorporado. A estimativa do orçamento total de azoto para a *Z. noltii* na estação de maior produtividade (primavera), calculada com base nas taxas de incorporação de amónia e nitrato das folhas e raízes, foi ligeiramente mais baixa do que o valor de requisito total de azoto para o crescimento, o que indica que o crescimento da *Z. noltii* na Ria Formosa não está limitado, ou está apenas ligeiramente limitado, por azoto.

As taxas de incorporação de azoto inorgânico à luz e no escuro foram determinadas ao longo do tempo utilizando o método da perturbação. Com base neste método, as taxas de incorporação de azoto de plantas expostas a concentrações iniciais elevadas de amónia ou nitrato (95 e 65 µM) foram

medidas continuamente através da depleção dos nutrientes no meio ao longo do tempo de incubação. As taxas de incorporação de azoto foram semelhantes na luz e no escuro. Em ambas as condições de luz, o padrão temporal de incorporação de azoto caracterizou-se por taxas iniciais mais elevadas seguidas de taxas mais baixas mas relativamente constantes. Em condições de luz, as plantas suplementadas quer com amónia quer com nitrato acumularam açúcares solúveis nas folhas, enquanto as plantas suplementadas apenas com nitrato apresentaram uma redução do conteúdo de amido, particularmente nos rizomas. Estes resultados sugerem que a energia e o carbono necessários para a assimilação do nitrato derivam não só diretamente da fotossíntese mas também dos açúcares solúveis provenientes da degradação das reservas de amido dos rizomas. A incorporação de azoto no escuro conduziu a uma utilização e mobilização adicional das reservas de carboidratos, tanto de açúcares solúveis como de amido, particularmente ao nível dos rizomas. Ainda assim, o benefício decorrente da possibilidade de incorporar azoto inorgânico independentemente das condições de luz parece compensar o consumo adicional de carboidratos de reserva associado à incorporação de azoto no escuro.

Os efeitos do enriquecimento em CO₂ da água do mar na fotossíntese, crescimento e metabolismo do azoto da *Z. noltii* foram investigados numa experiência em mesocosmos onde as plantas foram

expostas durante cinco meses a concentrações atuais (360 ppm) e futuras (700 ppm) de CO₂. As taxas fotossintéticas das plantas expostas a condições de enriquecimento em CO₂ foram mais elevadas do que as das plantas expostas à concentração de CO₂ atual. Por outro lado, as taxas de crescimento e de incorporação de amónia não foram afetadas. A análise do conteúdo de azoto nas folhas das plantas de ambos os tratamentos experimentais de CO₂ revelou valores abaixo dos valores críticos indicativos de um deficiente fornecimento de azoto, o que sugere que o fornecimento de azoto inorgânico às plantas no mesocosmos poderá ter sido insuficiente para preencher os requisitos de azoto para o crescimento da espécie. Desta forma, as taxas de crescimento das plantas no mesocosmos podem ter sido controladas pela limitação da disponibilidade de azoto a que as plantas foram sujeitas no mesocosmos. As taxas fotossintéticas mais elevadas registadas a concentrações de enriquecimento de CO₂ sugerem que a erva marinha *Z. noltii* poderá beneficiar de futuros incrementos da concentração de CO₂ na água do mar quando em condições de nutrientes não limitantes.

Orientador: Professor Doutor Rui Santos

Palavras-chave: azoto, enriquecimento em CO₂, erva marinha, glutamina sintetase, incorporação, nitrato redutase, Ria Formosa, *Zostera noltii*.