

Efeito simultâneo da deficiência hídrica e do alumínio tóxico no solo na cultivar IAC91-5155 de cana-de-açúcar

Simultaneous effect of water deficiency and aluminum toxicity in the soil in cultivar IAC91-5155 of sugarcane

Samira Domingues Carlin^{1*}; Andressa Freitas de Lima Rhein²;
Durvalina Maria Mathias dos Santos³

Resumo

Na cana-de-açúcar, cultura de grande importância econômica no Brasil, os efeitos dos estresses abióticos causam acentuada redução da produtividade inferindo negativamente na agroindústria canavieira. Em busca de encontrar parâmetros que atuem como indicadores fisiológicos da aclimação das plantas aos efeitos da combinação de estresses, o presente trabalho avaliou a atividade da redutase do nitrato e os teores de clorofilas em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito simultâneo de dois estresses abióticos de grande ocorrência nos solos brasileiros: deficiência hídrica e alumínio tóxico. Para tanto, as plantas foram submetidas a três tratamentos de disponibilidade hídrica (% de capacidade de campo, CC): sem estresse (70% CC), estresse moderado (55% CC) e estresse severo (40% CC) e três tratamentos de acidez no solo (saturação por bases, V%): baixa acidez (V=55%), média acidez (V=33%) e alta acidez (V=23%). O experimento foi realizado em casa de vegetação 29,7±4,3°C e 75±10 UR%. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, em esquema fatorial 3×3, com quatro repetições. Após 60 dias sob ambos os estresses, foi verificada a atividade da enzima redutase do nitrato e os teores de clorofilas na folha diagnóstico. Os resultados mostram que, a atividade da enzima redutase do nitrato é indicadora apenas do efeito do estresse hídrico. Os teores de clorofilas são indicadores dos efeitos dos estresses isolados, deficiência hídrica ou toxidez do alumínio no solo. Ambos os parâmetros avaliados não podem ser adotados como indicadores fisiológicos do mecanismo de aclimação de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito combinado da deficiência hídrica e alumínio tóxico no solo.

Palavras-chave: *Saccharum* spp., redutase do nitrato, clorofilas, déficit hídrico, acidez

Abstract

Sugarcane is a very important economic crop in Brazil. The effects of abiotic stresses cause negative reduction of the productivity in the sugarcane industry. In order to identify indicators of stresses tolerance, two physiological variables were evaluated, nitrate reductase activity and chlorophyll contents in young plants of sugarcane, cv. IAC91-5155. The simultaneous effect of abiotic stresses of high occurrence in Brazilian soils are, water deficiency and aluminum toxicity. The plants were submitted to three treatments of water availability (% field capacity, FC): no stress (70% FC), moderate stress (55% FC), and extreme stress (40% FC); and three acidity treatments in the soil (base saturation, V%): no acidity

¹ PqC. da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Pólo Regional Centro Oeste, UPD, Jaú. C. P. 66, CEP: 17201-970, Jaú, SP. E-mail: sdcarlin@apta.sp.gov.br

² Eng^a Agr^a, Doutorado em Agricultura, Produção Vegetal, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, FCA-UNESP, Botucatu, SP. E-mail: andressa_rhein@yahoo.com.br

³ Prof^a. Adjunta do Depto. de Biologia Aplicada à Agropecuária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, FCAV-UNESP, CEP: 14884-900, Jaboticabal, SP. E-mail: dumaria@fcav.unesp.br

* Autor para correspondência

(V=55%), average acidity (V=33%), and high acidity (V=23%). The experiment was carried out in greenhouse, with $29.7\pm 4.3^{\circ}\text{C}$ and $75\pm 10\%$ RH. The experimental design was in randomized blocks, in 3×3 factorial arrangement, with four replicates. After 60 days, nitrate reductase activity and chlorophyll contents were evaluated in the diagnostic leaf. The results demonstrate that the response of plants to a combination of drought and aluminum toxicity, similar to the conditions in many natural environments, is different from the response of plants to each of these stresses applied individually, as typically tested in the laboratory. The nitrate reductase activity can be used as a biochemical-physiological marker of water deficiency while chlorophyll contents can be used as a biochemical-physiological marker of both of them, water deficiency or aluminum toxicity in soil. Both parameters can not be as a biochemical-physiological marker for acclimation of young plants of sugarcane cv. IAC91-5155, under the combined stresses.

Key words: *Saccharum* spp., nitrate reductase, chlorophylls, water deficit, acidity

Introdução

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é considerada, entre as fontes de energia renováveis, uma das melhores opções, com grande importância econômica no cenário agrícola brasileiro. Como qualquer outro cultivo agrônomico, tem sua produtividade influenciada pelos estresses ambientais, incluindo a deficiência hídrica no solo que provoca perdas irreparáveis na cultura (MAULE; MAZZA; MARTHA JUNIOR, 2001). O aumento do aquecimento global, nas últimas décadas, tem ampliado os períodos de seca, influenciando diretamente a disponibilidade de água do solo nas regiões canavieiras, o que reduz significativamente a produtividade nestas áreas. Atualmente um dos grandes desafios da agricultura é obter elevada produtividade em áreas sujeitas ao estresse hídrico (CARLIN; SANTOS, 2009).

Nas regiões tropicais, além das condições hídricas desfavoráveis existentes no solo a acidez provocada pela toxicidade por alumínio (Al^{3+}) pode interferir, negativamente, no estabelecimento de uma cultura, prejudicando, principalmente, o desempenho do sistema radicular para a absorção de água e nutrientes (ZHENG; YANG, 2005; HARTWIG et al., 2007). Estimativas revelam que, no mundo, aproximadamente 50% das terras aráveis e potencialmente utilizáveis para a produção de alimentos e de biomassa são ácidas e, portanto, sujeitas à toxicidade de Al^{3+} (MA, 2007). No Brasil, a ocorrência de solos ácidos com toxidez

de alumínio é bastante comum (HARTWIG et al., 2007; CARLIN; SANTOS, 2009).

A identificação e seleção de cultivares resistentes aos elevados níveis de alumínio no solo são altamente desejáveis, pois permite a utilização direta dessas plantas pelos agricultores, reduzindo custos de manejo da cultura, promovendo aumento no rendimento e proporcionando maiores lucros (MA, 2007).

O uso de parâmetros fisiológicos como indicadores dos estresses é muito frequente nas pesquisas atuais (MARIN; SANTOS, 2008; CARLIN; SANTOS, 2009). Devido sua importância, a enzima redutase do nitrato (EC 1.6.6.1) tem sido frequentemente utilizada como indicadora de estresses para mudanças associadas aos fatores moduladores do crescimento das plantas (CARELLI et al., 1996). Ainda, as clorofilas, pigmentos cloroplastídicos essenciais na etapa fotoquímica da fotossíntese, também são avaliadas perante aos efeitos de vários estresses nas plantas, sejam isolados (LIMA et al., 2004) ou sejam combinados (PSHIBYTKO et al., 2004).

Tanto a deficiência hídrica quanto o alumínio tóxico no solo, influenciam a atividade da enzima redutase do nitrato, responsável pela assimilação de nitrogênio nos vegetais (SHARMA; DUBEY, 2005). Também, interferem no processo fotossintético, promovendo alterações nos teores de clorofilas, sendo estas pesquisadas em algumas plantas como prováveis indicadores fisiológicos do estresse

hídrico (MOHAWESH; AL-ABSI, 2009) e da toxicidade do alumínio (MIHAILOVIC; DRAZIC; VUCINIC, 2008).

Geralmente, os estresses abióticos são estudados nas plantas em condições isoladas, tais como seca, salinidade, baixo pH nos solos e analisados sob diferentes aspectos moleculares na aclimação dos vegetais. Este tipo de análise é, no entanto, contrastante com as reais condições que ocorrem no campo, onde as plantas são rotineiramente sujeitas a interação de diferentes estresses. Sendo assim, as pesquisas devem enfatizar cada vez mais respostas fisiológicas dos efeitos da combinação de estresses abióticos nas plantas, considerando que o efeito de um único estresse não explica a real complexidade dos múltiplos estresses de ocorrência simultânea na natureza (SHULAEV et al., 2008).

Este trabalho faz parte de um estudo de mecanismos fisiológicos sob interação de estresses abióticos em cana-de-açúcar, cujos dados de ajuste osmótico foram publicados anteriormente por Carlin e Santos (2009).

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar se a atividade da enzima redutase do nitrato e os teores de clorofilas podem ser considerados indicadores fisiológicos do efeito combinado dos estresses abióticos, deficiência hídrica e alumínio tóxico no solo, em plantas jovens de cana-de-açúcar.

Material e Métodos

O experimento foi realizado de agosto a outubro de 2006, em casa de vegetação, com temperatura de $29,7 \pm 4,3^\circ\text{C}$ e 75 ± 10 UR%, no município de Jaboticabal – SP.

Para avaliar o efeito da combinação dos estresses hídrico e ácido no solo, foram utilizadas plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, considerada tolerante à seca (CARLIN; SANTOS, 2009). Os minitoletes de uma gema foram provenientes da Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento, APTA Pólo Centro Oeste,

Jaú, SP. Após 24 horas da realização da coleta, os toletes foram plantados em recipientes com capacidade para $0,25 \text{ dm}^3$, contendo areia lavada e esterilizada. As mudas originadas da brotação de uma gema foram mantidas em areia esteril, sem qualquer restrição hídrica, durante 30 dias. Após este período, foram selecionadas quanto à sanidade e homogeneidade e transferidas para vasos de plástico de 12 dm^3 preenchidos com Latossolo Vermelho distrófico álico, retirado da camada de 20-40 cm de profundidade, cuja análise química apresentou os seguintes resultados: pH (CaCl_2): 4,1; matéria orgânica: $14,0 \text{ g dm}^{-3}$; P (resina): $4,0 \text{ mg dm}^{-3}$; K: $1,4 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$; Ca: $3,0 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$; Mg: $2,0 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$; H+Al: $42,0 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$; soma de bases (SB): $6,4 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$; CTC: $48,4 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$; saturação por bases (V%): 13,0. A análise granulométrica indicou solo de textura argilosa. Em seguida foram aplicados os tratamentos de estresse, disponibilidade hídrica e acidez no solo.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, em esquema fatorial 3×3 , com três tratamentos de disponibilidade hídrica e três tratamentos de acidez no solo, com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F utilizando-se do teste de Tukey para a comparação entre médias. A análise da regressão polinomial foi utilizada para o desdobramento dos graus de liberdade dos fatores quantitativos, disponibilidade hídrica e acidez do solo (BANZATTO; KRONKA, 2006).

Os tratamentos de disponibilidade hídrica foram determinados a partir dos valores de microporosidade obtidos pelo método da mesa de tensão com uma coluna de água de 60 cm de altura, considerando-se a densidade do solo, obtida pela relação entre a massa do solo seco em estufa a 110°C durante 24 h, e o volume da amostra de solo indeformada (CLAESSEN, 1997). A microporosidade correspondeu a 100% da capacidade de campo (CC) equivalente a 2,7 L de água. No entanto, a capacidade de campo do solo foi estabelecida em 70% da microporosidade, considerada adequada

para a maioria das plantas cultivadas. A quantidade de água a ser adicionada foi calculada para cada tratamento de disponibilidade hídrica: sem estresse (70% CC; 1,89 L); estresse moderado (55% CC; 1,49 L) e estresse severo (40% CC; 1,08 L). Os vasos, umedecidos de acordo com os respectivos tratamentos, constituíram as unidades experimentais formadas por uma única muda de cana-de-açúcar. O controle da disponibilidade hídrica foi realizado a cada dois dias, por meio da pesagem dos vasos, tendo-se utilizando balança digital com capacidade máxima de 25 kg e precisão de $\pm 0,005$ kg; a reposição da água evapotranspirada foi realizada sempre que a variação entre a massa inicial do vaso e a massa obtida no dia da avaliação fosse igual ou superior a 2%.

Consideraram-se três níveis de acidez no solo, baixa acidez ($V=55\%$; pH (CaCl_2) de 5,1 e $0,0 \text{ mmol}_e \text{ dm}^{-3}$ de Al^{3+}), média acidez ($V=33\%$; pH (CaCl_2) de 4,6 e $3,0 \text{ mmol}_e \text{ dm}^{-3}$ de Al^{3+}) e alta acidez ($V=23\%$; pH (CaCl_2) de 4,2 e $6,0 \text{ mmol}_e \text{ dm}^{-3}$ de Al^{3+}). Para o estabelecimento dos tratamentos de acidez, foram utilizados, como referência, os valores da saturação por bases ($V\%$) presentes em Raij et al. (1997). O tratamento de baixa acidez ($V=55\%$) foi estabelecido por ser próximo ao valor de saturação por bases de 60%, que proporciona adequada produtividade para a cultura da cana-de-açúcar (ROSSETTO et al., 2004).

A calagem foi realizada com uso de calcário calcinado (PRNT=130%). Para a homogeneização do calcário, as amostras de terra foram individualmente acondicionadas em sacos de plástico e, em seguida, foi adicionada água até a capacidade de campo. Essas amostras permaneceram em repouso durante 30 dias. Ao final deste período, amostras de cada tratamento foram submetidas à análise química para verificação dos níveis de acidez e das concentrações de alumínio tóxico.

Após 60 dias de efeito combinado dos estresses, foram coletadas amostras de fragmentos foliares do terço médio da folha diagnóstico (ou folha+1),

primeira folha mais nova da planta, completamente expandida, com aurícula visível, ideal para a avaliação dos parâmetros fisiológicos (DILLEWIJN, 1952) e verificadas a atividade da enzima redutase do nitrato (RN) e os teores das clorofilas (Chls) *a*, *b*, total (*a+b*) e razão *a/b*.

O ensaio in vivo da RN, foi efetuado pelo método de Jaworski (1971) modificado por Cazetta (1997) visando otimizar a técnica para folhas de gramíneas. Imediatamente após a coleta do terço médio da folha+1 dos respectivos tratamentos, o material vegetal (sem nervura) foi cortado em pedaços de aproximadamente 5 mm e colocados em frascos escuros com 10 mL do meio de incubação composto por 6,0 mL de tampão fosfato 400 mM, pH 7,2; 6,0 mL de KNO_3 200 mM; 6,0 mL de n-propanol 4% (v/v); 2,4 mL de triton X-100 a 0,1% (v/v) e 3,6 mL de água deionizada. Os frascos colocados em dessecador foram submetidos a vácuo com pressão de 60 cm Hg por um minuto, com posterior reintrodução do ar, repetindo-se este procedimento por três vezes. Em seguida, os frascos foram transferidos para incubação em banho-maria a 30°C, no escuro, durante 60 minutos. A reação foi interrompida com adição de 1 mL da solução de sulfanilamida a 1%. Devido à formação de nitrito, pela reação com a redutase do nitrato, 0,5 mL do meio de incubação foi retirado para a determinação do nitrito. Posteriormente adicionou-se 0,5 mL de solução de sulfanilamida a 1% e 0,5 mL de solução de cloridrato de n-naftil etileno diamina a 0,02% a esta alíquota. Esta solução permaneceu em repouso por 20 minutos, quando, então, adicionou-se água deionizada até completar o volume final para 4,0 mL.

A concentração de nitrito produzida foi determinada em espectrofotômetro a 540 nm. A atividade da enzima redutase do nitrato foi calculada com base na equação da curva de padronização, na quantidade (μg) e no tempo do meio de incubação (h), bem como na massa fresca do tecido vegetal (g^{-1} MF). Assim, foi expressa em $\mu\text{g N-NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$.

Os teores de clorofilas da folha+1 foram determinados de acordo com metodologia de Arnon (1949). Para tanto, 0,5 g de tecido vegetal foi macerado com 5 mL de acetona 80% (v/v). Após a maceração, o material foi filtrado a vácuo e o volume final completado até 50 mL com acetona. Os extratos obtidos foram submetidos às leituras de absorbância, utilizando-se espectrofotômetro, nos comprimentos de onda de 663 nm (clorofila *a*), 645 nm (clorofila *b*) e 652 nm (clorofila total). Diante disso, foram calculados os teores das clorofilas, clorofila total (*a+b*) e razão clorofila *a/b*, expressos em mg g⁻¹ de massa fresca, de acordo com as equações, a seguir:

$$\text{Clorofila } a = (12,7 \times (A_{663}) - 2,69 \times (A_{645})) \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{Clorofila } b = (22,9 \times (A_{645}) - 4,68 \times (A_{663})) \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{Clorofila total (a + b)} = \frac{((A_{652}) \times 1000)}{34,5} \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{Razão clorofila } a/b = \frac{4,70 A_{663} - A_{645}}{4,87 A_{645} - A_{663}} \times 0,574$$

onde:

A = absorbância (nm);

V = volume final do extrato (acetona 80% + clorofila);

W = massa fresca das amostras (g).

Resultados e Discussão

A análise de variância dos dados da atividade da enzima RN, na folha+1 de plantas jovens de cana-de-açúcar, sob efeito combinado da disponibilidade hídrica e da toxidez do alumínio no

solo evidencia que, houve apenas efeito significativo da disponibilidade hídrica (Tabela 1; Figura 1). Conforme ocorreu aumento da deficiência hídrica, de 70 para 40% CC, houve redução da atividade da RN em 31,3% (1,32 μg N-NO₂ g⁻¹ h⁻¹). Resultados semelhantes foram observados em outra pesquisa com cana-de-açúcar sob deficiência hídrica, em que se constatou redução desta enzima, variando de 14,3 a 36,1% (NAIK et al., 2002). De acordo com Xu e Zhou (2004), em plântulas de *Arabidopsis*, a diminuição da disponibilidade hídrica no solo provocou significativa redução da atividade da RN. Provavelmente, estes resultados ocorreram em virtude do decréscimo no fluxo transpiratório e com isso o transporte de nitrato (NO₃⁻) para as folhas, uma vez que esta enzima é altamente induzida por seu substrato (ANDRADE NETTO, 2005). Na maioria das espécies vegetais, a atividade da RN é baixa ou não detectável quando cultivadas em ambientes secos que causam ausência de nitrato no solo (DONATO et al., 2004). Por ser um parâmetro fisiológico muito afetado pela restrição hídrica é usada como variável na avaliação das plantas em diferentes condições ambientais (ANDRADE NETTO, 2005; OLIVEIRA et al., 2005). Ainda, baixos potenciais hídricos no solo interferem na quantidade de nitrogênio da planta, limitando seu crescimento, influenciando diretamente a fotossíntese, seja na formação dos cloroplastos, síntese de clorofilas, síntese protéica ou atividade da enzima Rubisco. Os resultados obtidos no presente trabalho sugerem que os tratamentos de 55% CC e 40% CC podem ter proporcionado menor assimilação de nitrogênio pela cultivar estudada, devido à diminuição da atividade da enzima RN. Sabe-se que, a RN é considerada enzima-chave no processo de absorção do nitrogênio, pois catalisa o primeiro passo na via de redução do nitrato. O decréscimo da atividade dessa enzima pode ocorrer devido ao predomínio de NH₄⁺ no solo tornando a forma NO₃⁻ indisponível para os vegetais (FOY; FLEMING, 1982).

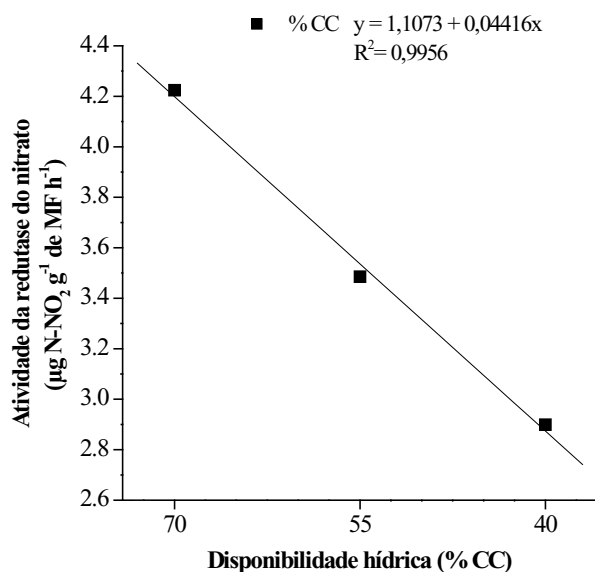
Tabela 1. Quadrados médios da análise de variância dos efeitos da disponibilidade hídrica e da acidez no solo sobre a atividade da enzima redutase do nitrato (RN) e dos teores de clorofilas da cultivar de cana-de-açúcar IAC91-5155.

Causa da Variação	G.L	Quadrados Médios				
		Atividade da RN $\mu\text{g N-NO}_2\text{ g}^{-1}\text{ MF h}^{-1}$	Teores de clorofilas ($\text{mg g}^{-1}\text{ MF}$)			
			Clorofila a	Clorofila b	Total (a+b)	Razão clorofila (a/b)
Disponibilidade hídrica (H)	2	3,1757 **	0,1685**	0,1503**	0,4800**	0,0011 ^{ns}
Acidez (A)	2	0,0771 ^{ns}	0,0582*	0,0350*	0,1339*	0,0055 ^{ns}
Interação HxA	4	0,3553 ^{ns}	0,0174 ^{ns}	0,0164 ^{ns}	0,0512 ^{ns}	0,0019 ^{ns}
Tratamentos	8	0,9908	0,0654	0,0545	0,1791	0,0026
Blocos	3	0,1033 ^{ns}	0,0092 ^{ns}	0,0037 ^{ns}	0,0158 ^{ns}	0,0051 ^{ns}
Resíduo	24	0,1661	0,0109	0,0097	0,0299	0,0037
CV.(%)		11,4382	16,9833	16,9602	16,5165	5,7784

^{ns} não significativo. * e ** Significativo a 5 e 1% de probabilidades pelo teste F, respectivamente. GL – Graus de liberdade. CV – Coeficiente de variação. MF – Massa fresca.

Fonte: Elaboração dos autores

Figura 1. Atividade da enzima redutase do nitrato na folha+1 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006. %CC – Capacidade de campo; MF – Massa fresca.



Fonte: Elaboração dos autores.

Na literatura, encontram-se respostas variadas sobre os efeitos da toxidez do alumínio na atividade da RN, desde redução, em trigo (FOY; FLEMING, 1982) e arroz (SHARMA; DUBEY, 2005), até efeito de estimulação da RN na leguminosa

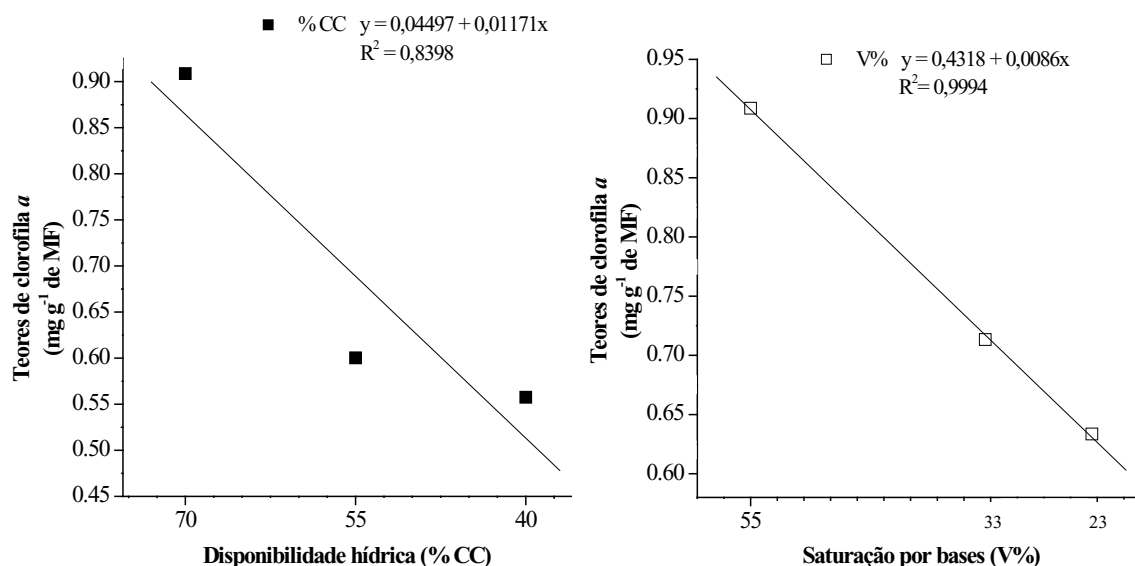
forrageira *Stylosanthes macrocephala* (AMARAL; CORDEIRO; RENA, 2000) e em feijão (WANG; HUANG; BI, 2010). Embora a toxidez de alumínio esteja relacionada com o metabolismo do nitrato e considerando que a redutase do nitrato seja induzida por este substrato (AMARAL; CORDEIRO; RENA, 2000), os resultados do presente trabalho sugerem que não houve interferência do alumínio tóxico na atividade da enzima RN da parte aérea de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155 (Tabela 1). Isto deve ter ocorrido devido à atividade da RN ser mais sensível aos efeitos da deficiência hídrica que aos efeitos do alumínio tóxico disponível no solo, mesmo quando ambos os estresses estão interagindo. De fato, a RN mostra-se muito sensível às oscilações dos fatores do ambiente, especialmente em relação à disponibilidade de água no solo. Com a restrição mais severa de água, o potencial de turgescência da folha diminui, afetando fortemente a atividade de enzimas como a RN (ANDRADE NETTO, 2005; OLIVEIRA et al., 2005). Ainda, como a modulação da RN é variável para cada espécie/cultivar, nas plantas da cv. IAC91-5155, não foi detectável qualquer alteração na atividade da enzima em resposta dos efeitos combinados dos estresses, deficiência hídrica e toxidez do alumínio, ao contrário do ocorrido em plântulas de arroz onde, de acordo com Sharma e Dubey (2005), a

ação conjunta de ambos os estresses reduziram significativamente a atividade desta enzima.

A concentração dos pigmentos cloroplastídicos (Chls *a*, *b*, total e razão *a/b*) sob ambos os estresses,

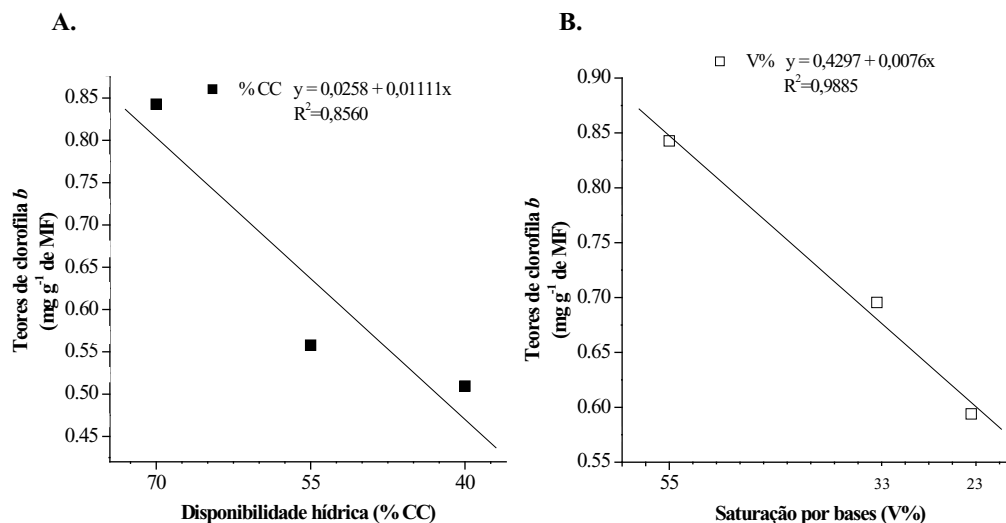
decreceu acentuadamente apenas sob efeito isolado dos estresses, isto é sob efeito da deficiência hídrica ou do alumínio tóxico (Tabela 1; Figuras 2 a 4).

Figura 2. Teores de clorofila *a* na folha+1 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica (A) e da acidez no solo (B), aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006. %CC – Capacidade de campo; V% – Saturação por bases; MF – Massa fresca.



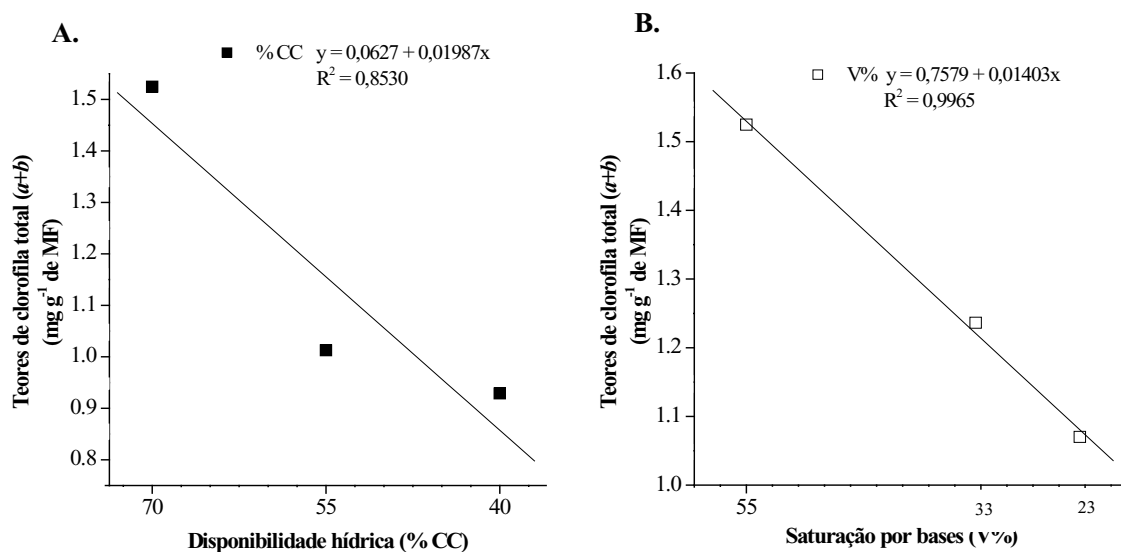
Fonte: Elaboração dos autores.

Figura 3. Teores de clorofila *b* na folha+1 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica (A) e da acidez no solo (B), aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006. %CC – Capacidade de campo; V% – Saturação por bases; MF – Massa fresca.



Fonte: Elaboração dos autores.

Figura 4. Teores de clorofila total ($a+b$) na folha+1 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica (A) e da acidez no solo (B), aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006. %CC – Capacidade de campo; V% – Saturação por bases; MF – Massa fresca.



Fonte: Elaboração dos autores.

Com o decréscimo da disponibilidade hídrica no solo (70% CC para 40% CC) houve acentuada redução nos teores das clorofilas a (38,5%; 0,35 mg g⁻¹), b (39,3%; 0,33 mg g⁻¹) e total (38,8%; 0,59 mg g⁻¹), cujos resultados estão apresentados nas Figuras 2A, 3A e 4A, respectivamente. De maneira geral, a restrição hídrica no solo promoveu decréscimos significativos nos teores das clorofilas a e b , sem, no entanto, promover qualquer diferença na razão clorofila a/b . Em cultivares de cana-de-açúcar sob deficiência hídrica no solo foi observada redução gradual no conteúdo dos pigmentos clorofilianos, contudo, tal redução variou de acordo com a severidade do estresse, permanência da planta sob estresse e com o grau de tolerância e/ou sensibilidade da cana-de-açúcar (SILVA et al., 2007; CHA-UM; KIRDMANEE, 2009). Em trabalho realizado por Gonçalves (2008) foi constatado, em cultivares tolerantes de cana-de-açúcar, reduções superiores a 40% nos teores das clorofilas a , b e total ($a+b$) em potenciais hídricos mais severos. Obviamente, a diminuição gradual dos teores dos pigmentos clorofilianos causada pelo estresse hídrico em

plantas de cana-de-açúcar é um dos principais fatores que limitam a atividade fotossintética (CHA-UM; KIRDMANEE, 2009), o que compromete a produtividade da cultura pela dificuldade em alocar fotossintatos. Ainda, os resultados do presente trabalho podem inferir que, pelo fato da deficiência hídrica causar redução na atividade da RN (Figura 1) houve uma menor assimilação de nitrogênio, que deve ter potencializado a redução gradual dos teores de clorofilas, pois o nitrogênio é um dos principais constituintes da molécula clorofiliana. Realmente, quanto maior a quantidade de nitrogênio disponível para as plantas, maior será o conteúdo de clorofila e sua capacidade fotossintética e solos com baixo potencial hídrico apresentam quantidades limitantes deste nutriente (OLIVEIRA et al., 2005). Os efeitos do estresse hídrico na redução dos teores de clorofilas, avaliados no presente trabalho, evidenciam a relação deste estresse com a produtividade vegetal, considerando que as respostas fotossintéticas podem ser utilizadas como índices de tolerância à deficiência hídrica nas plantas (SILVA et al., 2007). A deficiência hídrica severa,

por outro lado, também favorece a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), que danificam as plantas oxidando pigmentos fotossintéticos, lipídeos de membrana, proteínas e ácidos nucleicos. Decréscimos nos teores de clorofila podem, portanto, ser sintoma característico de estresse oxidativo, e tem sido verificado em plantas sob estresse hídrico (CARVALHO et al., 2003).

Desta forma, podem-se correlacionar no presente trabalho as variáveis fisiológicas da atividade da enzima RN e dos teores de clorofilas, as quais sob efeito isolado e negativo dos estresses conduzem ao prejuízo do máximo crescimento.

O alumínio tóxico no solo causou diminuição na concentração das clorofilas *a*, *b* e total (*a+b*), de 30,8% (0,28 mg g⁻¹), de 29,8% (0,25 mg g⁻¹) e de 29,6% (0,45 mg g⁻¹), cujos resultados estão apresentados nas Figuras 2B, 3B e 4B, respectivamente. Em plantas com metabolismo C4 e do mesmo grupo da cana-de-açúcar, como milho (LIDON et al., 1999) e sorgo (PEIXOTO; MATTA; MATTA, 2002), também houve redução nos teores dos pigmentos fotossintéticos. Este decréscimo dos teores de clorofilas observados no presente trabalho pode estar associado à menor capacidade de absorver diferentes formas de nitrogênio, elemento diretamente relacionado com a síntese de pigmentos fotossintéticos. Ainda, a toxicidade do alumínio prejudica, acentuadamente, a absorção e a translocação do magnésio, constituinte importante das moléculas de clorofila e, conseqüentemente, a fotossíntese. O alumínio, também, compete com o magnésio e o cálcio por sítios na parede celular e, principalmente, na membrana plasmática (MILIVOJEVIC; STOJANOVIC, 2003).

A ausência de respostas da atividade da RN e dos teores de clorofilas ao efeito simultâneo da deficiência hídrica e do alumínio tóxico no solo, em plantas jovens de cana-de-açúcar, pode ter sido em decorrência desses parâmetros fisiológicos serem mais sensíveis à restrição hídrica que a toxidez do alumínio. As análises de variância (Tabela 1) indicam

maior significância ($p \leq 0,01$) para os tratamentos de déficit hídrico que para os tratamentos de alumínio tóxico ($p \leq 0,05$).

Em trabalho realizado por Carlin e Santos (2009), os quais avaliaram indicadores fisiológicos da interação entre déficit hídrico e acidez do solo, por meio da determinação de solutos compatíveis como trealose, glicina betaína e prolina e do crescimento inicial de plantas jovens de cana-de-açúcar foram observados acúmulo significativo desses solutos tanto sob estresses isolados quanto sob a interação dos estresses. Esses resultados sugerem que a deficiência hídrica diminui a quantidade total da atividade funcional da enzima redutase do nitrato e ambos os estresses reduzem a atividade da molécula de clorofila e que o acúmulo desses solutos tem ação direta na proteção e estabilização dessas macromoléculas contra danos irreversíveis causados pelos estresses. Resultados semelhantes foram observados em outra pesquisa com plantas jovens de arroz (SHARMA; DUBEY, 2005).

Conclusões

A enzima redutase do nitrato é indicadora do efeito do estresse hídrico.

Os teores de clorofilas são indicadores dos efeitos dos estresses isolados, deficiência hídrica ou toxidez do alumínio no solo.

Ambos os parâmetros avaliados não podem ser adotados como indicadores fisiológicos do mecanismo de aclimação da parte aérea de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito combinado da deficiência hídrica e do alumínio tóxico no solo.

Agradecimentos

Ao Pesquisador Científico, Dr. Marcelo de Almeida Silva, da APTA Pólo Centro Oeste, UPD-Jaú, SP, pelo fornecimento das mudas de cana-de-açúcar e pela contribuição na execução

deste trabalho; aos docentes da Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP/FCAV), Campus de Jaboticabal, Prof. Dr. José Frederico Centurion, pelo auxílio e desenvolvimento das análises de solo, Prof. Dr. Jairo Osvaldo Cazetta, pela assistência e realização das análises da atividade da enzima redutase do nitrato, Prof. Dr. Orlando Di Mauro por ceder a casa de vegetação para realização do experimento e Prof. Dr. David Arioaldo Banzatto, pelo auxílio nas análises estatísticas; e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

Referências

- AMARAL, J. A. T.; CORDEIRO, A. T.; RENA, A. B. Efeitos do alumínio, nitrato e amônio sobre a composição de metabólitos nitrogenados e de carboidratos em *Stylosanthes guianensis* e *S. macrocephala*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 35, n. 2, p. 313-320, 2000.
- ANDRADE NETTO, J. F. *Atividade das enzimas redutase do nitrato e glutamina sintetase em caféiro arábica*. 2005. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Departamento de Fitotecnia. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- ARNON, D. I. Cooper enzymes in isolated chloroplast polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, Rockville, v. 24, n. 1, p. 1-15, 1949.
- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. *Experimentação agrícola*. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237 p.
- CARELLI, M. L. C.; UNGARO, M. R. G.; FAHL, J. I.; NOVO, M. C. S. S. Níveis de nitrogênio, metabolismo, crescimento e produção de girassol. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Brasília, v. 8, n. 2, p. 123-130, 1996.
- CARLIN, S. D.; SANTOS, D. M. M. Indicadores fisiológicos da interação entre déficit hídrico e acidez do solo em cana-de-açúcar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 44, n. 9, p. 1106-1113, 2009.
- 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.
- CAZETTA, J. O. *Influência do nitrogênio e potássio no metabolismo, no desenvolvimento e na produção de plantas de milho*. 1997. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- CHA-UM, S.; KIRDMANEE, C. Proline accumulation, photosynthetic abilities and growth characters of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) plantlets in response to iso-osmotic salt and water-deficit stress. *Agricultural Sciences in China*, v. 8, n. 1, p. 51-58, 2009.
- CLAESSEN, M. E. C. (Org.). *Manual de métodos de análise de solo*. 2. ed. rev. atual. Rio de Janeiro: Embrapa-CNPS, 1997. 212 p. (EMBRAPA-CNPS. Documentos, 1).
- DILLEWIJN, C. VAN. *Botany of sugarcane*. Waltham: Chronica Botanica, 1952. 371 p.
- DONATO, V. M. T. S.; ANDRADE, A. G. de; SOUZA, E. S. de; FRANÇA, J. G. E. de; MACIEL, G. A. Atividade enzimática em variedades de cana-de-açúcar cultivadas in vitro sob diferentes níveis de nitrogênio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 39, n. 11, p. 1087-1093, 2004.
- FOY, C. D.; FLEMING, A. L. Aluminum tolerances of two wheat genotypes related to nitrate reductase activities. *Journal of Plant Nutrition*, New York, v. 5, n. 11, p. 1313-1333, 1982.
- GONÇALVES, E. R. *Fotossíntese, osmorregulação e crescimento inicial de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas à disponibilidade hídrica*. 2008. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo.
- HARTWIG, I.; OLIVEIRA, A. C.; CARVALHO, F. I. F.; BERTAN, I.; SILVA, J. A. G.; SCHMIDT, D. A. M.; VALÉRIO, I. P.; MAIA, L. C.; FONSECA, D. A. R.; REIS, C. E. S. Mecanismos associados à tolerância ao alumínio em plantas. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 28, n. 2, p. 219-228, 2007.
- JAWORSKI, E. G. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, London, v. 43, p. 1274-1279, 1971.
- LIDON, F. C.; BARREIRO, M. G.; RAMALHO, J. C.; LAURIANO, J. A. Effects of aluminum toxicity on nutrient accumulation in maize shoots: Implications on photosynthesis. *Journal of Plant Nutrition*, New York, v. 22, n. 2, p. 397-416, 1999.
- LIMA, M. G. S.; LOPES, N. F.; BACARIN, M. A.; MENDES, C. R. Efeito do estresse salino sobre a concentração de pigmentos e prolina em folhas de arroz. *Bragantia*, Campinas, v. 63, n. 3, p. 335-340, 2004.

- MA, J. F. Syndrome of aluminum toxicity and diversity of aluminum resistance in higher plants. *International Review of Cytology*, Knoxville, v. 264, p. 225-252, 2007.
- MARIN, A.; SANTOS, D. M. M. Interação da deficiência hídrica e da toxicidade do alumínio em guandu cultivado em hidroponia. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 43, n. 10, p. 1267-1275, 2008.
- MAULE, R. F.; MAZZA, J. A.; MARTHA JUNIOR, G. B. Produtividade agrícola de cultivares de cana-de-açúcar em diferentes solos e épocas de colheita. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 58, n. 2, p. 295-301, 2001.
- MIHAJLOVIC, N.; DRAZIC, G.; VUCINIC, Z. Effects of aluminium on photosynthetic performance in Al-sensitive and Al-tolerant maize inbred lines. *Photosynthetica*, Olomouc, v. 46, n. 3, p. 476-480, 2008.
- MILIVOJEVIC, D. B.; STOJANOVIC, D. D. Role of calcium in aluminum toxicity on content of pigments and pigment-protein complexes of soybean. *Journal of Plant Nutrition*, New York, v. 26, n. 2, p. 341-350, 2003.
- MOHAWESH, O. E.; AL-ABSI, K. M. Physiological response of two apple genotypes to different water regimes under semiarid conditions. *Advances in Horticultural Science*, Firenze, v. 23, n. 3, p. 158-165, 2009.
- NAIK, R. M.; KADAM, B. S.; PANDHARE, R. A.; PAWAR, S. M.; PATIL, R. C.; BHOI, P. G. Inheritance of proline accumulation and *in vivo* nitrate reductase activity in sugarcane leaves under water stress. *Indian Sugar*, New Delhi, v. 52, n. 6, p. 427-429, 2002.
- OLIVEIRA, M. A. J.; BOVI, M. L. A.; MACHADO, E. C.; RODRIGUES, J. D. Atividade da redutase de nitrato em mudas de pupunheira (*Bactris gasipaes*). *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 515-522, 2005.
- PEIXOTO, H. P.; MATTA, F. M.; MATTA, J. C. Responses of the photosynthetic apparatus to aluminum stress in two sorghum cultivars. *Journal of Plant Nutrition*, New York, v. 25, n. 4, p. 821-832, 2002.
- PSHIBYTKO, N. L.; KALITUKHO, L. N.; ZHAVORONKOVA, N. B.; KABASHNIKOVA, L. F. The pool of chlorophyllous pigments in barley seedlings of different ages under heat shock and water deficit. *Russian Journal of Plant Physiology*, Moscow, v. 51, n. 1, p. 15-20, 2004.
- RAIJ, B. VAN; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. 2. ed. Campinas: Instituto Agronômico/Fundação IAC, 1997. 285 p. (Boletim técnico, 100).
- ROSSETTO, R.; SPIRONELLO, A.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. Calagem para cana-de-açúcar e sua interação com a adubação potássica. *Bragantia*, Campinas, v. 63, n. 1, p. 105-119, 2004.
- SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant. *Journal of Plant Physiology*, Stuttgart, v. 162, n. 8, p. 854-862, 2005.
- SHULAEV, V.; CORTES, D.; MILLER, G.; MITTLER, R. Metabolomics for plant stress response. *Physiologia Plantarum*, Sweden, v. 132, n. 2, p. 199-208, 2008.
- SILVA, M. A.; JIFON, J. L.; SILVA, J. A. G.; SHARMA, V. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, Londrina, v. 19, n. 3, p. 193-201, 2007.
- WANG, H. H.; HUANG, J. J.; BI, Y. R. Nitrate reductase-dependent nitric oxide production is involved in aluminum tolerance in red kidney bean roots. *Plant Science*, Davis, v. 179, n. 3, p. 281-288, 2010.
- XU, Z.; ZHOU, G. Research advance in nitrogen metabolism of plant and its environmental regulation. *Journal of Applied Ecology*, London, v. 15, n. 3, p. 511-6, 2004.
- ZHENG, S. J.; YANG, J. L. Target sites of aluminum phytotoxicity. *Biologia Plantarum*, Praha, v. 49, n. 3, p. 321-331, 2005.

