

# A Aplicação de Cálcio Alivia Parcialmente o Efeito Deletério da Hipoxia em uma Linhagem de Milho Seleccionada para Tolerância ao Encharcamento

[Previous](#) [Top](#)  
[Next](#)



XXV Congresso Nacional de Milho e Sorgo - 29/08 a 02/09 de 2004 - Cuiabá - Mato C

JORGE L. R. FERRER<sup>2</sup>, JOSÉ D. ALVES<sup>3</sup>, PAULO C. MAGALHÃES<sup>4</sup>, NELSON D. FILHO<sup>3</sup>, DANIELA FRIES<sup>3</sup>, MARCELO MAGALHÃES<sup>3</sup> e ANTÔNIO A. C. PURCINO<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Corporación Colombiana de Investigación Agropecuária, <sup>2</sup>Universidade Federal de Lavras, <sup>3</sup>Embrapa Milho e Sorgo, E-mail: corsetti@cnpms.embrapa.br.

## INTRODUÇÃO

A baixa pressão de oxigênio nos solos promovida pelo encharcamento reduz severamente o crescimento e a produtividade da cultura do milho, pois este cereal não é tolerante a essa condição. No entanto, têm-se encontrado cultivares com certa tolerância à hipoxia, o que tem sido atribuído à presença de diferentes mecanismos bioquímicos e fisiológicos, como o fechamento estomático e a alterações morfológicas como, por exemplo, a formação de raízes adventícias e aerênquima nas raízes (Dantas et al., 2001). A hipoxia altera a expressão gênica das plantas e induz a síntese de polipeptídios anaeróbicos, desviando o metabolismo para a via anaeróbica (Liao & Lin, 2001). Estudos com a cultivar de milho Saracura, seleccionada para maior tolerância ao encharcamento (Parentoni et al., 1995), mostraram que 42% das plântulas deste genótipo sobreviveram após três dias em condições de hipoxia. Neste experimento, plântulas não viáveis apresentavam aspecto translúcido na região do mesocótilo, que evoluiu para uma constricção após cinco dias de tratamento. Este fato foi atribuído à maior atividade das enzimas relacionadas ao metabolismo de degradação de parede celular. O envolvimento dessas enzimas foi confirmado pelo aumento na concentração de substâncias de baixo peso molecular, semelhantes à glicose, ao avaliar o perfil gélido das frações pécicas (Vitorino et al., 2001). Tomando como base os trabalhos que relacionaram a maior tolerância à baixa pressão de oxigênio com o metabolismo de parede celular, surgiu a necessidade de verificar qual a participação do cálcio nesse mecanismo, visto que esse íon atua como elemento estrutural, conferindo maior resistência à parede celular (Damarty et al., 1984). A adição de  $\text{CaCl}_2$  à solução de germinação promoveu o aumento na sobrevivência das plântulas tanto da cv. Saracura como da variedade BR-107, classificada como não tolerante a essa condição de estresse (Vitorino et al., 2001). Além de aumentar a sobrevivência das plântulas cultivadas sob hipoxia, o cálcio promoveu alterações no desenvolvimento destas, reduzindo o crescimento das raízes em até 37% em relação ao controle (Alves et al., 2002). Resultados semelhantes foram encontrados ao estudar-se o efeito do cálcio na germinação e crescimento inicial de plântulas da variedade Saracura.

Estes trabalhos permitiram o estabelecimento de uma relação positiva entre a redução do crescimento das plântulas e o aumento da tolerância ao encharcamento. Além de atribuírem essa redução do crescimento das plântulas a uma possível diminuição da extensibilidade celular, estes autores sugeriram o envolvimento do cálcio no metabolismo das reservas de carboidratos. Durante a imposição de tratamentos de hipoxia em plântulas de milho, acontece também uma diminuição na atividade das invertases neutra e ácida (Ricard et al. 1998). Apesar da adição de cálcio à solução de germinação ter aumentado a tolerância da cv. "Saracura" quando em condições de déficit de oxigênio, todos os experimentos realizados até o presente foram conduzidos em laboratório, nas fases de germinação e desenvolvimento inicial das plântulas. Portanto, visando determinar o efeito do cálcio nos mecanismos de tolerância ao encharcamento da cv. Saracura em estádios mais avançados de desenvolvimento, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes níveis, fontes e formas de aplicação deste elemento, na atividade das invertases e da carboxilase do fosfoenolpiruvato, no período de floração desta cultivar.

### **Material e Métodos**

Sementes de uma linhagem S3 de milho derivada do 14º ciclo de seleção para tolerância ao encharcamento da cv. Saracura foram cultivadas em 80 vasos com capacidade de 20 kg, cheios com um solo classificado como Neossolo Flúvico Tb. O experimento foi conduzido em casa de vegetação e antes do plantio o solo foi adubado de acordo com os resultados da análise química, recebendo uma adubação básica de 23 g 20 kg<sup>-1</sup> de solo da fórmula 5-20-20+ Zn. Plantou-se 5 sementes por vaso e após a germinação foi feito um desbaste para 2 plantas/vaso. Cada vaso recebeu semanalmente 5 g de sulfato de amônio. Para avaliação do efeito do cálcio utilizou-se duas fontes (CaCl<sub>2</sub>, na dosagem de 300 kg ha<sup>-1</sup> e Ca<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, nas dosagens de 500 e 1500 kg ha<sup>-1</sup>) e três formas de aplicação (aplicado a 8 cm da superfície, incorporado em todo o solo e sem incorporar). Para avaliação do efeito do encharcamento, 40 vasos foram submetidos ao encharcamento a partir do estágio V6 até a floração e 40 vasos receberam irrigação normal. O delineamento experimental utilizado para os dois ambientes de irrigação foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. A análise estatística dos dados obtidos foi feita pelo programa SISVAR e comparações entre médias foram realizadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Durante a floração procedeu-se a determinação da produção de matéria seca da parte aérea das plantas e, nas raízes, dos teores de açúcares solúveis totais e dos açúcares redutores e das atividades das invertases neutra do citosol (INC), ácidas do vacúolo (IAV), ácida da parede celular (IAPC) e da carboxilase do fosfoenolpiruvato (PEPcase). Durante a coleta de material para análise, amostras de folhas e raízes foram lavadas em água destilada, secas em papel de filtro, embrulhadas em papel de alumínio, imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e a seguir armazenadas a -80° C. Os açúcares redutores (AR) foram quantificados de acordo com a metodologia descrita por Miller (1959) e os açúcares solúveis totais foram quantificados pelo método de Yemm & Willis (1954). Para determinar a atividade das isoformas da invertases utilizou-se o método descrito por Zeng et al. (1999). Para determinação da atividade da PEPcase utilizou-se metodologia descrita por Purcino et al. (1998).

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O encharcamento influenciou negativamente o acúmulo de matéria seca na parte aérea das plantas de milho (Tabela 1). Vários autores afirmam que esta característica é a mais afetada pelo encharcamento porque esse estresse atua sobre vários processos fisiológicos

das plantas (Albrecht et al., 1997). Segundo Alves et al. (2000), esta condição de estresse leva as plantas a utilizarem de vias alternativas da respiração aeróbica, com uma produção deficiente de energia. Observou-se, entretanto, que quando as plantas submetidas a encharcamento receberam 500 ou 1500 kg.ha<sup>-1</sup> de CaSO<sub>4</sub> gesso aplicado em todo volume do solo (tratamentos 3 e 6) ou 1500 kg.ha<sup>-1</sup> de CaSO<sub>4</sub> aplicados na superfície do vaso (tratamento 7) a produção de fitomassa foi significativamente superior a aquela observada nas plantas controle que sofreram encharcamento (tratamento 1). A comparação da produção de fitomassa entre os ambientes encharcado e normal para as mesmas fontes e níveis de cálcio sugere que a aplicação de CaSO<sub>4</sub> proporcionou um alívio significativo no efeito negativo do encharcamento sobre o desenvolvimento das plantas. As plantas cultivadas sob encharcamento que receberam CaSO<sub>4</sub> mostram um produtividade de fitomassa muito parecida com a aquela obtida com as plantas controle cultivadas em ambiente normal (tratamentos 3, 6 e 7 contra tratamento 11). Salienta-se, entretanto, que no ambiente normal, a produtividade de fitomassa também foi positivamente influenciada pela aplicação de 1500 kg.ha<sup>-1</sup> de CaSO<sub>4</sub> ou por 300 kg.ha<sup>-1</sup> de CaCl<sub>2</sub> (tratamentos 16-20 contra tratamento 11). Os valores de açúcares solúveis totais, reportados como mg de glicose g<sup>-1</sup> de matéria seca (MS), e de açúcares redutores nas raízes, medidos como mmol de glicose g<sup>-1</sup> MS, no período de floração, não foram afetados pelo encharcamento e nem pela presença do cálcio. Su et al. (1998), ao avaliarem duas variedades de cucurbitáceas de diferentes comportamentos ao encharcamento, observaram que os teores de açúcares em raízes aumentaram no início da imposição do encharcamento, diminuindo posteriormente a valores iguais ou inferiores à testemunha. Neste experimento a atividade da invertase ácida do vacúolo não foi afetada pelo encharcamento nem pela adição de CaSO<sub>4</sub> ou CaCl<sub>2</sub>, mas em comparação com plantas sob encharcamento, a atividade desta isoforma da invertase foi significativamente maior nas plantas cultivadas em ambiente normal quanto estas receberam 1500 kg.ha<sup>-1</sup> de CaSO<sub>4</sub> ou 300 kg.ha<sup>-1</sup> de CaCl<sub>2</sub> aplicados na superfície dos vasos (tratamentos 4 e 10 contra tratamentos 14 e 20). No ambiente encharcado, a atividade da invertase neutra do vacúolo foi significativamente aumentada pela adição de 1500 kg.ha<sup>-1</sup> de CaSO<sub>4</sub> e de 300 kg.ha<sup>-1</sup> de CaCl<sub>2</sub> quanto estas fontes de cálcio foram incorporadas ao solo dos vasos. Sob encharcamento, a atividade da invertase ácida da parede celular (IAPC) foi significativamente mais alta nas plantas que receberam 500 kg.ha<sup>-1</sup> de CaSO<sub>4</sub> ou 300 kg.ha<sup>-1</sup> de CaCl<sub>2</sub> aplicados na superfície do solo. É interessante observar, que sob encharcamento, as plantas que receberam estas doses e fontes de cálcio, mostraram mais alta atividade da IAPC que as plantas cultivadas em ambiente normal. A atividade da enzima carboxilase do fosfoenolpiruvato (PEPcase) nas raízes foi muito baixa no tratamento controle do ambiente encharcado (tratamento 11) mas este efeito negativo significativamente aliviado pela aplicação de 500 kg.ha<sup>-1</sup> de CaSO<sub>4</sub> a 8 cm da superfície e de 1500 kg.ha<sup>-1</sup> aplicados na superfície do solo. Na realidade, os dados da Tabela 1 sugerem que apesar das diferenças não serem estatisticamente significativas, a adição tanto de CaSO<sub>4</sub> quanto de CaCl<sub>2</sub> mostra uma tendência de aliviar o efeito deletério do encharcamento sobre a atividade desta enzima. Estes resultados levam a supor que o cálcio, em níveis adequados, aumenta a atividade desta enzima nas plantas alagadas, permitindo, com isso, uma maior regeneração do poder redutor (NAD<sup>+</sup>) segundo a rota alternativa proposta por Crawford (1967). Desta forma, ocorreria o efeito Pasteur, que é, segundo alguns autores, uma alternativa de sobrevivência das plantas submetidas ao encharcamento (Summers et al., 2000).

TABELA 1. Matéria seca da parte aérea (g), açúcares solúveis totais (AST) (mg de glicose g de MS<sup>-1</sup>), açúcares redutores (AR) (mmol de glicose g de MS<sup>-1</sup>) e atividade da enzima invertase neutra do citossol (INC), invertase ácida do vacúolo (IAV) e ácida da parede celular (IAPC) (μmol de glicose g de MS<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), carboxilase do fosfoenolpiruvato (PEPcase) (μmol de CO<sub>2</sub> g de MS<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>) avaliados na época de floração em plantas de milho "Saracura" submetidas ao encharcamento e irrigação normal, com diferentes níveis, fontes e formas de aplicação do cálcio.



---

XXV Congresso Nacional de Milho e Sorgo - 29/08 a 02/09 de 2004 - Cuiabá - Mato C

---