



Efeito da acidez da solução nutritiva sobre o desenvolvimento de alfafa em ambiente controlado

Maurício Marini Köpp¹, Leônidas Paixão Passos¹, Maria Coletta Vidigal¹, Leiri Daiane Barili², Naine Martins do Vale², Fabio de Souza Fernandes³, Rafael Marques³

¹ Pesquisador da Embrapa Gado de Leite – CNPGL, Juiz de Fora, MG. e-mail: kopp@cnpgl.embrapa.br

² Acadêmica do Curso de Agronomia da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC/CAV, Lages, SC.

³ Acadêmico do Curso de Química da Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Juiz de Fora, MG.

Resumo: O presente trabalho teve como objetivo determinar o efeito da acidez da solução nutritiva sobre caracteres morfo-fisiológicos da alfafa, a fim de estimar as respostas da espécie na caracterização a estresses manifestados em pH ácido. Foram utilizadas plantas aclimatadas de alfafa providas de sementes germinadas em vermiculita. As plantas foram mantidas em câmara *biotronette* cultivadas em solução nutritiva Clark sob dois níveis de pH 3,5 e 6,0. Após sete dias foram avaliados: comprimento de raiz e parte aérea, teor de clorofila, massa fresca e seca da raiz e da parte aérea. As amostras de folhas e raízes foram extraídas por digestão nitroperclórica na proporção de 2:1 (HNO₃:HClO₄) e determinados os teores de Mg, Al, Cu, Mn, B, K, Na, Fe, Ca, Mo, Ni, Zn e Cr através de ICP-AES. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com três repetições. A partir dos dados pode-se concluir que as variáveis matéria seca e comprimento de raízes e matéria seca da parte aérea são indicadas para avaliação de estresse sob níveis ácidos de pH da solução nutritiva em alfafa. O acúmulo de nutrientes é extremamente dependente do nível de pH do meio não sendo recomendado para caracterização de respostas a estresses em níveis baixos de pH.

Palavras-chave: estresse abiótico, *Medicago sativa*, pH, sistema hidropônico

Effect of nutrient solution acidity on the development of alfalfa seedlings grown in a controlled environment

Abstract: The purpose of this study was to determine the effect of nutrient solution acidity on morpho-physiological attributes of alfalfa, aiming for subsequent evaluations of alfalfa responses to abiotic stresses expressed under acidic pH conditions. The experiments were set up with acclimatized alfalfa seedlings following seed germination in vermiculite. The plants were grown in *biotronette* chambers, in aerated containers with Clark's nutrient solution at pH 3.5 or 6.0. Following a growth period of seven days, the following parameters were measured: length of the aerial parts and roots, chlorophyll level, and fresh and dry weight of the aerial parts and roots. Leaf and root samples were extracted through nitroperchloric digestion 2:1 (HNO₃:HClO₄) and analyzed through ICP-MS relative to Mg, Al, Cu, Mn, B, K, Na, Fe, Ca, Mo, Ni, Zn e Cr levels. The experiments were conducted in a complete randomized design with three replications. The data suggest that dry matter and length of roots and dry matter of the aerial parts are indicators for evaluating alfalfa responses to stress when grown in nutrient solutions with acidic pH values. The accumulation of essential nutrients is not suitable for characterizing stress responses under acidic pH, because it is extremely dependent on the medium's pH level.

Keywords: abiotic stress, hydroponic systems, *Medicago sativa*, pH

Introdução

A alfafa é uma forrageira extremamente importante para a produção animal, possuindo qualidades nutritivas como elevado teor de proteína bruta e palatabilidade (Lédo et al., 2005). Além disso, possui boa adaptabilidade aos mais diferentes tipos de clima e solo, se tornando bastante cultivada em quase todas as regiões agrícolas. A ocorrência de metais tóxicos nos solos tem levado a intensificação das pesquisas relacionadas a estes estresses.

Devido à dificuldade da realização de trabalhos em condições de campo, a utilização de ambientes controlados com o uso de soluções nutritivas tem sido amplamente explorado pelos pesquisadores no estudo de estresses (Duncan & Baligar, 1990). No entanto, deve ser levado em consideração que alguns destes estresses só são manifestados a níveis baixos de pH. A toxidez por cromo e alumínio, por exemplo, só é manifestada a pH de 4,0 ou menor (Macêdo & Morril, 2008). Desta maneira, a seleção de genótipos sob condições de ambiente controlado com uso de solução nutritiva deve considerar a ocorrência de duas fontes de estresse, a presença do metal e o pH ácido da solução nutritiva.

O objetivo deste trabalho foi determinar o efeito da acidez da solução nutritiva sobre caracteres morfo-fisiológicos da alfafa, a fim de estimar as reais respostas da espécie na caracterização ao estresse manifestados em pH ácido.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia Vegetal da Embrapa Gado de Leite. Inicialmente 60 sementes de alfafa cv Monarca foram lavadas em água destilada por três vezes e postas para germinar em substrato de vermiculita umedecida com água destilada. Após a germinação foram selecionadas 30 plântulas homogêneas cultivadas em água por mais 3 dias e após transferidas para bandejas de 2 L escuras contendo solução de Clark (Clark, 1975) sob duas condições de pH: 3,5 (corrigido diariamente) e 6,0 (livre). As plantas foram mantidas em câmara com controle ambiental *biotronette* com 240 mol/s.m² de irradiância, 30±4°C, 14 h de fotoperíodo e aeração constante.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com três repetições de 15 plantas por repetição e o experimento repetido em duas épocas. Após sete dias de cultivo foram realizadas as seguintes avaliações: comprimento de raiz e parte aérea (CR e CPA), teor de clorofila, massa fresca e seca da raiz e parte aérea (MSR, MSPA, MFR e MFPA). As amostras de folhas e raízes foram extraídas por digestão nitroperclórica na proporção de 2:1 (HNO₃:HClO₄) e determinados os teores de Mg, Al, Cu, Mn, B, K, Na, Fe, Ca, Mo, Ni, Zn e Cr através de ICP-AES. Os dados foram submetidos a análise de variância (teste F) considerando pH como fator fixo e os resultados apresentados pela significância da diferença entre as médias dos níveis do fator de tratamento (p≤5%).

Resultados e Discussão

Os resultados da análise de variância (dados não apresentados) demonstram que não existe efeito da época de condução do experimento, porém o efeito do pH da solução nutritiva foi significativo a 5% de probabilidade de erro para todas as variáveis, exceto para CR, MSR, MSPA, Ni e Mo das raízes e Cu da parte aérea. Os resultados da significância da diferença entre as médias das variáveis para os níveis de pH estudados podem ser observadas na Tabela 1 onde os resultados indicam que o pH 6,0 propiciou um maior comprimento de parte aérea. Já, o comprimento das raízes não apresentou diferença significativa quando cultivado sob pH 3,5 ou 6,0.

As variáveis relativas a matéria seca tanto de raízes quanto de parte aérea não sofreram variação significativa em ambas condições de pH estudadas. Porém, a matéria fresca, apresentou uma resposta inversa com relação a variação do pH da solução, onde as raízes acumularam mais matéria fresca sob pH 6,0 e a parte aérea sob pH 3,5. Com base nestes resultados, é possível afirmar que o pH ácido da solução nutritiva acarreta maior acúmulo de água na parte aérea e menor nas raízes, porém quando secas em estufa, estes valores não diferem entre si.

Com relação ao teor de clorofila (SPAD) o pH ácido proporcionou um maior valor, sugerindo que a planta pode estar iniciando um mecanismo fisiológico de compensação ao estresse causado pelo meio ácido. O maior teor de clorofila pode também estar relacionado ao menor comprimento das folhas o que ocasiona maior acúmulo de assimilados em uma menor área acarretando em maior leitura SPAD.

Tabela 1 Resultado da comparação entre dois níveis de pH da solução nutritiva sobre as variáveis comprimento de raízes e parte aérea (CR e CPA), matéria seca e fresca de raízes e parte aérea (MSR, MSPA, MFR e MFPA) e teor de clorofila de alfafa cv Monarca.

Variável	pH 3,5	pH 6,0
CR (cm)	2,62 a *	2,64 a
CPA (cm)	3,92 b	5,20 a
MSR (mg)	20,88 a	20,05 a
MSPA (mg)	135,50 a	135,83 a
MFR (mg)	245,23 b	252,22 a
MFPA (mg)	251,97 a	201,80 b
Teor Clorofila (SPAD)	26,80 a	20,95 b

* Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo teste F (p≤5%)

Os resultados permitem concluir que o desenvolvimento das raízes da alfafa independe do pH da solução nutritiva, porém o acúmulo de água é maior sob pH 6,0 indicando que a matéria seca e comprimento de raízes são bons parâmetros para avaliação de estresses sob baixos níveis de pH. Já para a parte aérea, o comprimento e a matéria fresca obtiveram maiores resultados sob pH 3,5, indicando que apenas a matéria seca é um parâmetro confiável para avaliações sob pH ácidos. Além destas variáveis o teor de clorofila também teve comportamento diferencial sob os níveis de pH indicando também, não ser um bom parâmetro. Segundo Martinez (2002) as variáveis relacionadas ao sistema de raízes são mais

eficientes em avaliar a toxidez por metais por estarem em contato direto com o elemento tóxico, no entanto devem ter boa capacidade de refletirem o real efeito estudado em cada caso.

Os resultados relativos à análise de ICP-AES da alfafa sob os níveis de pH estudados podem ser visualizados na Tabela 2. Estes resultados demonstram um comportamento semelhante para os elementos avaliados nas raízes e na parte aérea sob as duas condições de pH com exceção de Ca, Cu e K. Os elementos Ca, Mg, Al, Cu, Fe, Mn, Zn, B e Na nas raízes foram superiores em pH 6,0 enquanto que Cr e K superiores em pH 3,5. Já os elementos Ni e Mo não sofreram interferência do pH da solução onde as plantas foram cultivadas.

Para os teores dos elementos na parte aérea, pode ser constatado que Mg, Al, Fe, Mn, Zn, B, K e Na foram superiores sob pH 6,0 e os elementos Ca e Cr superiores sob pH 3,5. No caso da avaliação da parte aérea os elementos Cu, Ni e Mo se acumularam igualmente independente do nível de pH.

Tabela 2 Resultado da comparação entre os dois níveis de pH da solução nutritiva sobre as variáveis relativas aos teores de nutrientes avaliadas nas raízes e parte aérea de alfafa cv Monarca.

Variável (mg Kg ⁻¹)	Raízes		Parte Aérea	
	pH 3,5	pH 6,0	pH 3,5	pH 6,0
Ca	4.385,0 b	9.867,0 a	8.091,0 A	7.338,0 B
Mg	7.884,0 b	12.100,0 a	3.822,0 B	5.362,0 A
Al	7.950,0 b	17.690,0 a	476,0 B	2.007,0 A
Cu	73,1 b	118,0 a	26,0 A	35,6 A
Fe	5.362,0 b	8.463,0 a	462,0 B	1.963,0 A
Mn	169,0 b	335,0 a	64,4 B	96,9 A
Zn	104,0 b	285,0 a	76,9 B	109,0 A
Cr	2.319,0 a	501,0 b	7,6 A	< 2,0 B
Ni	107,0 a	168,0 a	10,6 A	25,8 A
B	207,0 b	765,0 a	62,3 B	165,0 A
Mo	79,6 a	84,2 a	17,0 A	11,8 A
K	28.250,0 a	19.850,0 b	23.240,0 B	37.840,0 A
Na	2.490,0 b	3.563,0 a	812,0 B	960,0 A

Médias seguidas pela mesma letra minúscula para raiz e maiúscula para parte aérea na linha não diferem estatisticamente pelo teste F (p≤5%)

Resh (1997) concluíram que a absorção de nutrientes é extremamente influenciada pelo pH da solução nutritiva na qual as plantas se desenvolvem. Estes autores relataram ainda que os elementos imóveis são menos influenciados pela condição de pH da solução principalmente na parte aérea, porém para Ca, Mn e Fe que são pouco móveis pode haver grande influência na absorção nos tecidos das raízes. Desta maneira e baseado nos resultados descritos da análise de ICP-AES não se recomenda a avaliação do teor de nutrientes para determinação de estresses relacionadas à ocorrência de pH baixo.

Conclusões

As variáveis matéria seca e comprimento de raízes e matéria seca de parte aérea são indicadas para avaliação de estresses sob níveis ácidos de pH da solução nutritiva em alfafa (*Medicago sativa* L.). O acúmulo de elementos nos tecidos é extremamente dependente do nível de pH do meio não sendo recomendado para caracterização da toxidez em níveis baixos de pH.

Literatura citada

- CLARK, R. B. Characterization of phosphatase of intact morize roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.23, n.3, p.458-460, 1975.
- DUNCAN, R.R.; BALIGAR, V.C. **Crops as Enhancers of Nutrient Use**. San Diego: Academic Press, 1990. 574p.
- LÉDO, F.J.S.; BOTREL, ANDRADE M.; et al. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de alfafa avaliadas em Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, n.2, p.409-414, 2005.
- MACEDO, L.S.; MORRIL, W.B.B. Origem e comportamento dos metais fitotóxicos: revisão da literatura. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.2, n.2, p.29-38, 2008.
- MARTINEZ, H.E.P. **O uso de cultivo hidropônico de plantas em pesquisa**. Viçosa: UFV, 2002. 61p.
- RESH, H.M. **Cultivos hidropônicos**. Madri: Mundi-Prensa, 1997. 509p.