



## Respostas fisiológicas no algodoeiro em função da interação P x Zn<sup>(1)</sup>.

Elcio Ferreira dos Santos<sup>(2)</sup>; José Lavres Junior<sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos do Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq)

<sup>(2)</sup> Doutorando em ciências; Centro de Energia Nuclear na Agricultura/Universidade de São Paulo; Piracicaba, São Paulo; elciosantos@cena.usp.br (E-mail); <sup>(3)</sup> Professor Doutor; Centro de Energia Nuclear na Agricultura/Universidade de São Paulo; Piracicaba, São Paulo.

**RESUMO:** A interação fósforo (P) x zinco (Zn), embora amplamente discutida na literatura, ainda exige o preenchimento de algumas lacunas do conhecimento, principalmente em relação as respostas fisiológicas divergentes a essa interação, em diferentes espécies vegetais. Objetivou-se com esse trabalho avaliar as respostas fisiológicas por meio da assimilação de CO<sub>2</sub> e da atividade da fosfatase ácida, bem como correlacionar essas respostas com o status nutricional do algodoeiro. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em vasos individuais, com solução nutritiva e aerados individualmente, em um estudo de superfície de resposta. Quando as plantas atingiram o estágio fenológico F1 (estádio fenológico caracterizado como alta taxa de absorção de nutrientes), procedeu-se a avaliações fisiológicas. A interação P x Zn resultou em modificações no desenvolvimento do algodoeiro, sendo que foi observada a relação de antagonismo mútuo toda vez que ambos os nutrientes excederam seus valores críticos. Por meio dos resultados, é possível inferir que o Zn tem função de sinalização, exercendo controle na absorção de P, sendo que sua absorção tem efeito indireto na atividade da fosfatase ácida e incrementa a assimilação do CO<sub>2</sub> em condições de P adequadas.

**Termos de indexação:** *Gossypium hirsutum* L.; assimilação de CO<sub>2</sub>; fosfatase ácida.

### INTRODUÇÃO

Uma interação clássica entre nutrientes é a que ocorre entre o fósforo (P) e o zinco (Zn), sendo que a presença de altos teores de P no solo. Essa interação é classicamente chamada de “deficiência de Zn induzida pelo P” (Cakmak & Marschner, 1986). Essa interação é frequentemente baseada em três mecanismos: (1) o P insolubiliza o Zn na superfície das raízes diminuindo sua absorção; (2) o P inibe não competitivamente a absorção de Zn; (3) o P insolubiliza o Zn no xilema diminuindo o transporte para a parte aérea (Malavolta et al., 1997).

No metabolismo vegetal, a interação fisiológica do P e do Zn parece inferir em um antagonismo mútuo toda vez que ambos os nutrientes excedem seus valores críticos (Marschner, 2012). O fornecimento combinado de P e Zn promove alterações

enzimáticas (e.g., fosfatase ácida), modificando a disponibilidade fisiológica destes nutrientes. Por sua vez, a manifestação externa de anormalidade provocada pela deficiência de qualquer nutriente é o resultado de uma cadeia de acontecimentos iniciados a nível molecular, com modificação subcelular e posterior alteração celular a qual, finalmente, resulta em modificação no tecido - o sintoma (Marschner, 2012). Portanto as alterações no desenvolvimento vegetal em função da interação P x Zn são reguladas por diferentes disponibilidades desses elementos.

Bouain et al. (2014) mostraram que a co-regulação de homeostase de P-Zn pode variar em variedades da mesma planta. Broadley et al., (2010) relataram que a deficiência de Zn conduz a um aumento substancial nas concentrações de P de diferentes espécies vegetais, indicando lacunas de conhecimentos sobre respostas fisiológicas em função da nutrição mineral de P e Zn.

O desenvolvimento do algodoeiro é o resultado do processo de crescimento e desenvolvimento dos seus órgãos, cuja intensidade está relacionada ao equilíbrio fisiológico e metabólico da planta. A disponibilidade de P e Zn podem afetar as características fisiológicas, estruturais e produtivas, com reflexos no estabelecimento e produção de algodão. Assim, a avaliação das respostas fisiológicas do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) em resposta ao suprimento de P e Zn é prioridade para orientação do manejo da adubação e da fertilidade do solo, visto que os estudos analisando o sistema solo-planta no algodoeiro são escassos.

Objetivou-se com esse trabalho avaliar as respostas fisiológicas por meio de parâmetros de trocas gasosas e atividade da fosfatase ácida, bem como correlacionar essas respostas com o status nutricional do algodoeiro.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), em Piracicaba/SP, em condições de casa de vegetação. As sementes serão colocadas para germinar em bandeja rasa com vermiculita, umedecida com solução de sulfato de cálcio (CaSO<sub>4</sub>, 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>), e quando as plantas emergidas atingiram cerca de 5 cm de altura foram transferidas para bandeja de plástico com capacidade de 40 L contendo solução



nutritiva (Johnson et al., 1957) completa e diluída a 1/5 da concentração usual, denominada “solução de adaptação”. Após uma semana nesta solução de adaptação, as plantas foram transferidas para vasos plásticos com capacidade de 3,5 L contendo soluções nutritivas (3,0 L) e iniciando, portanto, os tratamentos. Durante o desenvolvimento experimental, foi programada a renovação das soluções nutritivas por cerca de 14 dias, completando-se o volume dos vasos diariamente com água deionizada.

O delineamento experimental foi o de blocos completos aleatorizados, com quatro repetições. Foram estudadas as combinações de cinco doses de fósforo (0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 mmol L<sup>-1</sup>) e cinco doses de zinco (0,25; 0,75; 2,0; 3,0; 4,0 μmol L<sup>-1</sup>), em estudo de superfície de resposta, num fatorial 5<sup>2</sup> fracionado. O fósforo e zinco foram fornecidos com KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (com balanço do K para os tratamentos) e ZnCl<sub>2</sub>, respectivamente. A solução nutritiva foi preparada a partir da solução completa de Johnson et al. (1957) e modificada para atender as doses de fósforo e zinco do experimento. Para evitar a contaminação da solução pela presença indesejável de zinco, a qual poderia interferir nos resultados experimentais, serão utilizados reagentes ultrapuros.

Quando as plantas atingiram o estágio de emissão da primeira flor (35 dias após o início dos tratamentos), estágio F1, foi realizada as avaliações fisiológicas: atividade da fosfatase ácida (Raposo et al. 2004) e assimilação de CO<sub>2</sub> (Santos et al., 2013). As avaliações foram realizadas no período da manhã, entre as 9:00 as 11:00 horas, sendo utilizada a quinta folha superior expandida, também utilizada para as avaliações químicas de tecido vegetal. As determinações das concentrações de P e Zn nos tecidos vegetais, foram de acordo com metodologia descrita por Malavolta et al. (1997). Com o agravamento das deficiências de P e Zn (60 dias após início dos tratamentos), as plantas foram retiradas, com posterior determinação de massa seca. As plantas foram identificadas, acondicionado em sacos de papel e secado em estufa a 65°C durante 72 horas.

Os resultados foram submetidos às análises estatísticas e ao nível de significância de 5%. Os resultados foram analisados utilizando-se os procedimentos MIXED e RSREG. Nos casos em que a interação P x Zn não for significativa os fatores serão analisados separadamente, por meio de procedimentos GLM.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A folha diagnose apresentou a maior concentração de P na combinação entre as altas doses de P e menores doses de Zn (**Figura 1A**).

Cakmak & Marschner (1986), também trabalhando com algodoeiro, atribuíram este alto acúmulo de P a uma interrupção no feedback negativo de absorção deste macronutriente, diminuindo a redistribuição de P da parte aérea para as raízes. Em condições normais de crescimento a absorção de P pelas plantas é rigorosamente controlada, buscando manter a concentração de P em seus tecidos dentro dos limites fisiológicos, no entanto, este controle é reduzido sob a deficiência de Zn, levando ao alto acúmulo de P (Balai et al., 2011; Bouain et al., 2014). O Zn desempenha papel específico na via de transdução de sinal responsável pela regulação de alguns genes que codificam elevada afinidade P transportadores nas raízes da planta (Rose et al., 2013). Da mesma forma, no presente trabalho, o P também regulou a absorção de Zn, sendo que altas doses de P, resultaram em plantas com baixa concentração de Zn (**Figura 1B**). Por outro lado, altas doses de Zn na solução nutritiva (4 μmol L<sup>-1</sup>), reduziram a absorção de P na folha diagnose (**Figura 1A**), mesmo quando combinadas com dose adequada de P (2 mmol L<sup>-1</sup>). Esta redução na absorção de P parece estar associada ao aumento da concentração de Zn na raízes, que induz a planta a absorver menos P (Broadley et al., 2010; Rose et al., 2013). Desta maneira, para o algodoeiro, fica claro a existência de um mecanismo de controle molecular de absorção de P, sinalizado pela absorção de Zn pelas raízes dessa espécie.

A menor assimilação de CO<sub>2</sub> observada, foram nas plantas cultivadas na maiores e menores doses de P, sendo que as doses de Zn, incrementaram a assimilação de CO<sub>2</sub>, a medida que o suprimento de P foi aumentado. A concentração de P foliar apresentou correlação positiva com a assimilação de CO<sub>2</sub> (r = 0,78; p < 0,0001), sendo isso não observados entre a assimilação de CO<sub>2</sub> e as concentrações de Zn. Embora o Zn ser constituinte da anidrase carbônica, que por sua vez tem age marcadamente na assimilação de CO<sub>2</sub>, no presente trabalho, os maiores efeitos para esse parâmetro foi em função do P. Desta maneira, o Zn apenas melhorou a eficiência fotossintética, já que a doses adequada de Zn combinada com altas doses de Zn, apresentou a maior assimilação de CO<sub>2</sub>.

Verificou-se aumento na atividade da fosfatase ácida nas plantas cultivadas em baixas doses de P (**Figura 1D**). Em condições de baixa disponibilidade de fósforo, as plantas utilizam a fosfatase ácida para promover a desfosforilação de compostos orgânicos disponibilizando fósforo inorgânico para manutenção do metabolismo celular em regiões meristemáticas (Thomas et al., 2006). A elevada atividade dessa



enzima é associada a maior eficiência de utilização de P. Resultado interessante foi observado para as plantas cultivadas com altas doses de P e de Zn, nas quais apresentaram atividade da fosfatase ácida, semelhantes as plantas deficientes em P (**Figura 1D**). Desta maneira fica evidente o controle do Zn na absorção de P em plantas de algodoeiro.

As baixas doses de P, limitaram o aumento da assimilação de CO<sub>2</sub> (**Figura 1C**) em função da redução da capacidade de carboxilação e regeneração da rubisco (Marschner, 2012). Essa baixa atividade fotossintética, foi refletida na menor produção de massa seca das plantas cultivadas com baixas doses de P, independentemente das doses de Zn (**Figura 1E**). A redução da capacidade fotossintética, como resposta à baixa disponibilidade de P, pode resultar em mudanças no mecanismos de captação de luz ou inibição das reações de fotossíntese. Por outro lado, a maior produção de massa seca total das plantas foi observada na combinação das maiores doses de P e Zn (**Figura 1E**).

No presente trabalho, foi observada a deficiência de Zn nas plantas cultivadas nas maiores doses de P combinadas, com doses de Zn baixas e adequadas de Zn (0,25 – 2 µmol L<sup>-1</sup>). A deficiência de Zn no presente trabalho foi caracterizada por folhas em expansão apresentando-se cloróticas (**Figura 1F**). Em seguida, essas folhas já desenvolvidas, passaram a apresentar as nervuras com coloração azulada. Os sintomas acentuaram-se com o tempo de cultivo, apresentando entrenós mais curtos e as folhas novas com formato irregular (roseta). Esses sintomas são resultantes da dificuldade dos tecidos crescerem normalmente em função da deficiência de Zn. Dificuldades das folhas em expandir-se acarretam em folhas pequenas e a dificuldade dos internódios em alongar-se leva as folhas dos nós sucessivos a se aproximarem, dando origem ao sintoma de roseta (Rosolem & Bastos, 1997; Marschner, 2012).

### CONCLUSÕES

A interação P x Zn no algodoeiro inferi em relação de antagonismo mútuo toda vez que ambos os nutrientes excedem seus valores críticos.

A interação P x Zn exerce modificações no metabolismo vegetal, tem reflexo no desenvolvimento do algodoeiro.

O Zn tem função de sinalização, exercendo controle na absorção de P, sendo que sua absorção tem efeito indireto na atividade da fosfatase ácida e incrementa a assimilação do CO<sub>2</sub> em condições de P adequadas.

### REFERÊNCIAS

BALAI, R.M.; GIMENO, V.; SHAHID, M.A. et al. Effects of phosphorus fertilization on growth, leaf mineral concentration and xylem-phloem nutrient mobility in two rootstocks of prunus in the Mediterranean area. *Australian Journal of Crop Science*, 5:1542-1549, 2011.

BOUAIN, N.; KISKO, M.; ROUACHED, A. et al. Phosphate/zinc interaction analysis in two lettuce varieties reveals contrasting effects on biomass, photosynthesis, and dynamics of Pi transport. *BioMedical Research International*, 54:52-54, 2014

BROADLEY, M.R.; LOCHLAINN S.O.; HAMMOND J.P. et al. Shoot zinc (Zn) concentration varies widely within Brassica oleracea L. and is affected by soil Zn and phosphorus (P) levels. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 85:375–380, 2010.

CAKMAK, I. & MARSCHNER, H. Mechanism of phosphorus-induced zinc deficiency in cotton. I zinc deficiency-enhanced uptake rate of phosphorus. *Physiologia Plantarum*, 68:483-490, 1986.

JOHNSON, C.M.; STOUTS, P.R. & BROYER, T.C. Comparative chlorophyll of different plants species. *Plant and Soil*, 8:337-353, 1957.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C. & OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. London, Academic Press, 2012. 651p.

MOORE, A.; HINES, S.; BROWN, D. et al. Soil-plant nutrient interactions on manure-enriched calcareous soils. *Agronomy Journal*. 106:73-19, 2014.

RAPOSO, R.W.C.; MURAOKA, T.; BASSO, L.C. et al. Acid phosphatase activity and leaf phosphorus content in soybean cultivars. *Scientia Agricola*, 61:439-445, 2004.

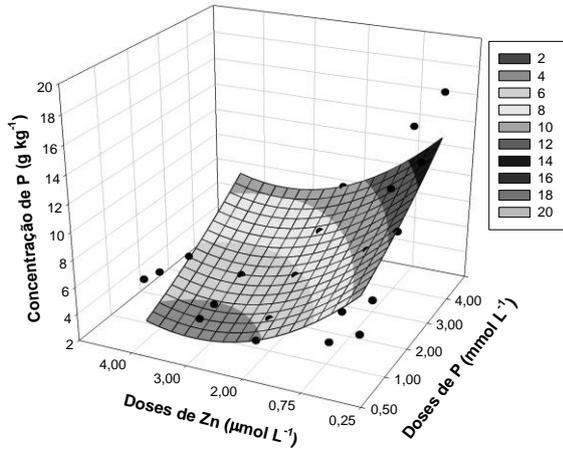
ROSE, T.J.; IMPA, S.M.; ROSE, M.T. et al. Enhancing phosphorus and zinc acquisition efficiency in rice: a critical review of root traits and their potential utility in rice breeding. *Annals of Botany*, 112:331-45, 2013.

ROSOLEM, C.A. & BASTOS, G.B. Deficiências minerais no cultivar de algodão IAC 22. *Bragantia*, 56:377-387, 1997.

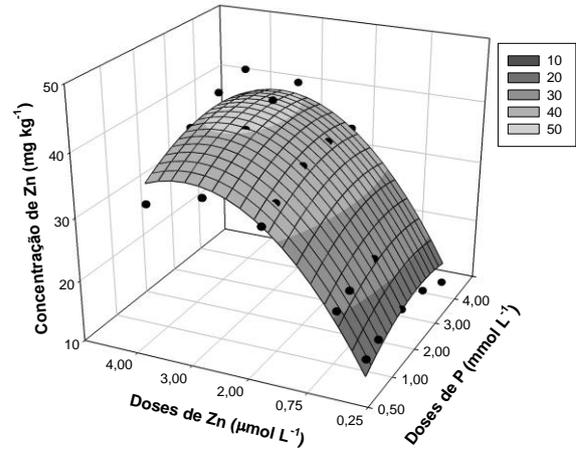
SANTOS, E.F.; ZANCHIM, B.J.; CAMPOS, A.G. et al. Photosynthesis rate, chlorophyll content and initial development of physic nut without micronutrient fertilization. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 37:1334-1342, 2013.

THOMAS, D.S.; MONTAGU, K.D. & CONROY, J.P. Leaf inorganic phosphorus as a potential indicator of phosphorus status, photosynthesis and growth of Eucalyptus grandis seedlings. *Forest Ecology and Management*, 223:267-274, 2006.

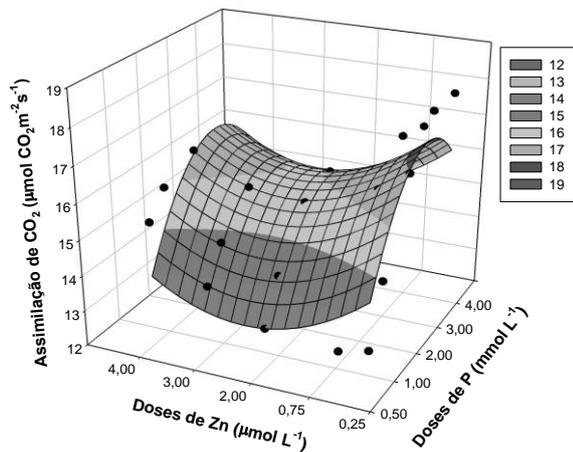
A  $Y = 5,02 + 2,96P - 2,23Zn + 0,12P^2 - 0,97P \cdot Zn - 0,68Zn^2$  ( $R^2 = 0,87$ )



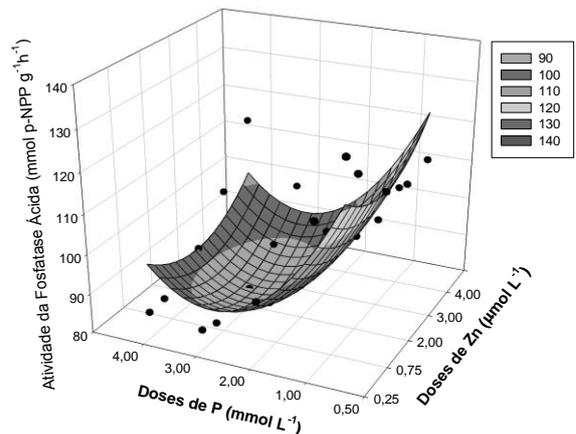
B  $Y = 9,78 + 2,72P + 15,26Zn - 0,80P^2 - 1,00Zn - 2,62Zn^2$  ( $R^2 = 0,88$ )



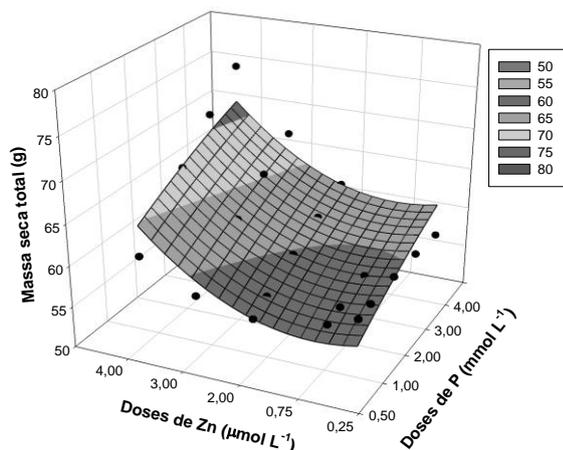
C  $Y = 11,47 + 4,02P - 0,47Zn - 0,56P^2 - 0,47P \cdot Zn + 0,31Zn^2$  ( $R^2 = 0,56$ )



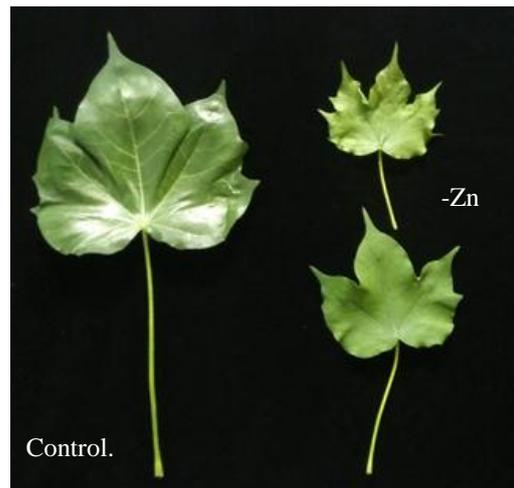
D  $Y = 154,61 - 40,24P - 16,33Zn + 5,83P^2 + 3,69P \cdot Zn + 2,24Zn^2$  ( $R^2 = 0,61$ )



E  $Y = 59,80 + 0,30P - 4,39Zn - 0,14P^2 + 1,14P \cdot Zn + 1,03Zn^2$  ( $R^2 = 0,61$ )



F



**Figura 1.** Concentração de P [A]; Concentração de Zn [B]; Assimilação de CO<sub>2</sub> [C]; e Atividade da fosfatase [D] na quarta folha totalmente expandida do algodoeiro submetido a combinações de doses de P e Zn; Produção massa seca total do algodoeiro submetido a combinações de doses de P e Zn ao final do experimento [E]; Sintomas de deficiência de Zn em folhas em expansão (-Zn) comparadas com o tratamento controle (Control.) [F].