

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP FACULDADE DE
CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PLANTAS DE CANA-DE-AÇÚCAR SUPLEMENTADAS
COM BORO TEM MAIOR TOLERÂNCIA AO EFEITO TÓXICO
DO ALUMÍNIO**

Francisco Bruno Ferreira de Sousa

Engenheiro Agrônomo

2022

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS CÂMPUS
DE JABOTICABAL**

**PLANTAS DE CANA-DE-AÇÚCAR SUPLEMENTADAS
COM BORO TEM MAIOR TOLERÂNCIA AO EFEITO TÓXICO
DO ALUMÍNIO**

Francisco Bruno Ferreira de Sousa

Orientador: Prof. Dr. Jairo Osvaldo Cazetta

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Ciência do Solo).

2022

S725p

Sousa, Francisco Bruno Ferreira de

Plantas de cana-de-açúcar suplementadas com boro tem maior tolerância ao efeito tóxico do alumínio / Francisco Bruno Ferreira de Sousa. -- Jaboticabal, 2022

84 f. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Jairo Osvaldo Cazetta

1. Acidez. 2. Estresse abiótico. 3. Mitigação. 4. Saccharum spp. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

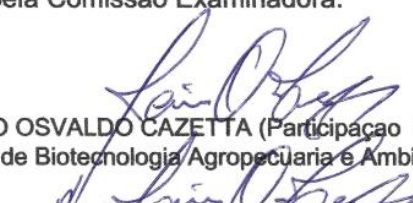
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

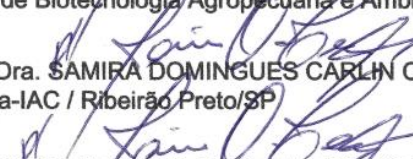
TÍTULO DA TESE: PLANTAS DE CANA-DE-AÇÚCAR SUPLEMENTADAS COM BORO TEM MAIOR TOLERÂNCIA AO EFEITO TÓXICO DO ALUMÍNIO

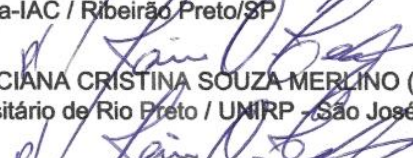
AUTOR: FRANCISCO BRUNO FERREIRA DE SOUSA

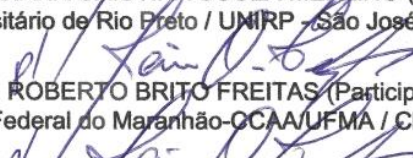
ORIENTADOR: JÁIRO OSVALDO CAZETTA

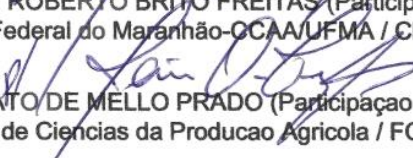
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (CIÊNCIA DO SOLO), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. JÁIRO OSVALDO CAZETTA (Participação Virtual)
Departamento de Biotecnologia Agropecuária e Ambiental / FCAV UNESP Jaboticabal


Pesquisadora Dra. SAMIRA DOMINGUES CARLIN CAVALLARI (Participação Virtual)
Centro de Cana-IAC / Ribeirão Preto/SP


Profa. Dra. LUCIANA CRISTINA SOUZA MERLINO (Participação Virtual)
Centro Universitário de Rio Preto / UNIRP - São José do Rio Preto/SP


Prof. Dr. JOSÉ ROBERTO BRITO FREITAS (Participação Virtual)
Universidade Federal do Maranhão-CCAA/UFMA / Chapadinha/MA


Prof. Dr. RENATO DE MELLO PRADO (Participação Virtual)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV UNESP Jaboticabal

Jaboticabal, 19 de abril de 2022

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

FRANCISCO BRUNO FERREIRA DE SOUSA, nasceu em Lago da Pedra, em 30 de abril de 1992. Possui formação no curso técnico em agropecuária pelo Centro de Formação Familiar por Alternância (CEFFA) - Manoel Monteiro, Lago do Junco - MA (2011). Graduado em Bacharel em Agronomia pela Universidade Federal do Maranhão (UFMA) no Câmpus de Ciências Agrárias e Ambientais de Chapadinha - MA (2016). Durante a graduação adquiriu experiências na área de Agronomia e Zootecnia com ênfase em forragicultura atuando nos seguintes temas: adubação mineral e orgânica de plantas forrageiras e ecofisiologia, publicando trabalhos referentes a essas aéreas. Foi membro de Grupos de pesquisa e Extensão como: Grupo de pesquisa e extensão de Forragicultura e Pastagens no Maranhão (FOPAMA) da Universidade Federal do Maranhão, Projeto Abelha Nativa e Manejo Sustentável no Cerrado Maranhense (MASCEMA). Durante a graduação também teve a oportunidade de ser bolsista de Iniciação científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) durante dois anos e bolsista de iniciação científica da Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) durante um ano. Foi monitor nas disciplinas: Álgebra Linear, Introdução à estatística e Hidráulica Agrícola. Participou de organização de eventos relacionados à pesquisa e extensão como Dia de campo, simpósio, feiras, palestras, cursos e minicursos. Foi aluno do curso de mestrado do programa de Pós-Graduação em Agronomia (Ciência do Solo) pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Jaboticabal sendo bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). A conclusão do mestrado ocorreu em 2018 com a defesa da dissertação “tolerância de genótipos de cana-de-açúcar a toxidez por alumínio, manganês e baixa disponibilidade de nutrientes” sob orientação do prof. Dr. Jairo Osvaldo Cazetta. Ainda em 2018 ingressou no mesmo programa de Pós-Graduação, em nível de Doutorado, sob orientação do prof. Dr. Jairo Osvaldo Cazetta. Durante o doutorado foi bolsista CAPES-DS no período do 01 de agosto de 2018 ao 31 de setembro de 2021.

“Para realizar grandes conquistas,
devemos não apenas agir, mas também
sonhar; não apenas planejar, mas
também acreditar.”

Anatole France

Dedico e Ofereço

À minha mãe, Cleudiana Ferreira de Sousa, à minha esposa, Sabrina da Silva Nascimento Sousa e aos meus irmãos e amigos que estiveram comigo nessa jornada contribuindo com apoio, dedicação, ensinamentos e conselhos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus pelo o dom da vida, pelas bênçãos, livramentos e força concedida, pois é graças a ele o que eu sou hoje.

À minha mãe CLEUDIANA FERREIRA DE SOUSA por ser a minha base e referência das coisas boas da vida. Por não ter medidos esforços para me apoiar, acreditar e incentivar sempre. Aos meus irmãos Laíza de Sousa Ramos, Artemisia de Sousa Ramos, Milena de Sousa Ramos, Dario de Sousa Ramos, Leilson Sousa, Darielson de Sousa Ramos que sempre estiveram ao meu e acreditaram e acreditam em mim.

Muito obrigado! À minha digníssima esposa Sabrina Nascimento, por tudo que tem feito por mim e por estar sempre ao meu lado nos momentos bons e ruins dando força e me apoiando. Te amo, amor!

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, pela oportunidade e infraestrutura necessária a realização desse trabalho e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Ciência do Solo), por ter dado a oportunidade para realizar o curso.

Ao professor, Amigo e orientador Dr. Jairo Osvaldo Cazetta, pelos ensinamentos, dedicação, paciência e sabedoria. Meu muito obrigado!

Ao Sr. José Carlos, Técnico de Laboratório do Departamento de Tecnologia da UNESP, pelos ensinamentos e gentileza durante a realização do experimento e aos meninos da graduação (Gustavo, Beatriz e Carol), que me ajudaram muito com o experimento. Aos meus colegas de curso e de departamento (Diêgo Sodré, Bianca Cavalcante, Laura, Marcilene, Kamila, Isaías e Paula) pela força com o experimento.

A todas as pessoas que não foram citadas direta ou indiretamente, com quem tive a oportunidade de conhecer e conviver em determinados momentos na Unesp e em Jaboticabal - SP. Meu Muito Obrigado!!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Obrigado!

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	v
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Aspectos gerais da cana-de-açúcar no Brasil.....	3
2.2 Toxidez do Alumínio em plantas.....	4
2.3 Mecanismo de tolerância ao Alumínio.....	6
2.4 Importância da nutrição mineral na mitigação do efeito do Alumínio.....	8
2.5 Boro no Solo.....	11
2.6 Boro na planta.....	13
2.7 Boro na cana-de-açúcar.....	16
2.8 Interação Boro e Alumínio.....	17
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1 Condições experimentais.....	19
3.2 Aquisição e preparo das mudas de cana-de-açúcar.....	20
3.3 Delineamento experimental e definição dos tratamentos.....	21
3.4 Variáveis biométricas.....	22
3.5 Rendimento quântico do FSII (Fv/Fm).....	23
3.6 Índice de extravasamento de eletrólitos celulares.....	23
3.7 Teste de coloração de raízes com hematoxilina.....	24
3.8 Açúcar total e sacarose.....	25
3.9 Nitrato.....	26
3.10 Aminoácidos livres totais.....	27
3.11 Teor de Boro, proteína total e nitrogênio.....	27
3.12 Análise estatística dos resultados.....	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4.1 Resultados biométricos das plantas.....	28
4.2 Índice de extravasamento de eletrólitos celulares e Rendimento quântico do FSII (Fv/Fm).....	39
4.3 Teste de coloração das raízes com hematoxilina.....	41

4.4	Teores de açúcares totais e sacarose, concentrações de boro, aminoácidos, nitrato, teor de nitrogênio e proteína bruta.....	47
5.	CONCLUSÕES	55
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

RESUMO

A toxidez por alumínio (Al) é um dos principais fatores limitantes da produtividade agrícola em solos ácidos. Alguns relatos têm sugerido que o aumento do fornecimento de nutrientes como o boro (B) pode mitigar esse efeito, mas nenhum estudo foi realizado com cana-de-açúcar para confirmar. Portanto, o objetivo neste trabalho foi verificar se o boro atenua o efeito da toxicidade do Al em plantas de cana-de-açúcar. O ensaio foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 4 x 3, sendo: 3 concentrações de B (15, 30 e 60 mmol L⁻¹) na forma de H₃BO₃, 4 concentrações de Al (0, 20, 40 e 60 mg L⁻¹) utilizando o AlCl₃ e 3 épocas de suplementação de boro (antes, durante e depois da exposição ao Al), com 4 repetições. Após 30 dias da exposição aos tratamentos, foram medidas e avaliadas as variáveis biométricas, teores de açúcares totais, sacarose, teor de boro e nitrogênio, aminoácidos, proteínas totais, rendimento quântico do fotossistema II e coloração das raízes com hematoxilina. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e comparação das médias pelo teste de Tukey. Os resultados revelaram que o boro atenua o efeito da toxicidade do alumínio sobre o crescimento das plantas de cana-de-açúcar, principalmente quando suplementadas antes e durante a exposição ao Al. Plantas que receberam baixa concentração de boro foram as mais afetadas pelo Al e o aumento da concentração de B proporcionou maior crescimento do sistema radicular e melhorias da parte aérea de plantas de cana-de-açúcar sob toxicidade de Al. A coloração das raízes com hematoxilina, revelaram menor acúmulo de Al nos ápices radiculares com fornecimento de boro. As concentrações de açúcares e sacarose nos tecidos foliares foram diminuídas com suplementação de 15 mmol L⁻¹ de B. Efeito positivo do B foi observado no metabolismo de N, resultando em acúmulo de aminoácidos e proteínas.

Palavras-chave: Acidez, Estresse abiótico, Mitigação, *Saccharum spp.*

ABSTRACT

Aluminum toxicity (Al) is one of the main factors limiting agricultural productivity in acidic soils. Some reports have suggested that an increased supply of nutrients such as boron (B) can mitigate this effect, but no studies have been carried out with sugarcane to confirm this effect. Therefore, the objective of this work was to verify whether boron attenuates the effect of Al toxicity on sugarcane plants. The assay was conducted under a completely randomized design in a 3 x 4 x 3 factorial scheme, with: 3 concentrations of B (15, 30 and 60 mol L⁻¹) in the form of H₃BO₃, 4 concentrations of Al (0, 20, 40 and 60 mg L⁻¹) using AlCl₃ and 3 times of boron supplementation (before, during and after exposure to Al) with 4 repetitions. The data were submitted to analysis of variance by the F test and comparison of means by the Tukey test. Results The results revealed that boron attenuates the effect of aluminum toxicity on the growth of sugarcane plants, especially when supplemented before and during exposure to Al. Plants that received a low concentration of boron were the most affected by Al and the increase in B concentration provided greater growth of the root system and improvements in the aerial part of sugarcane plants under Al toxicity. The staining of the roots with hematoxylin revealed less accumulation of Al in the root apices with boron supply. Sugar and sucrose concentrations in leaf tissues were reduced with supplementation of 15 mmol L⁻¹ of B. A positive effect of B was observed on N metabolism, resulting in accumulation of amino acids and proteins.

Keywords: Acidity, Abiotic stress, Mitigation, *Saccharum spp*

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Efeito do fornecimento das concentrações de 7,5, 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2, B3 e B4, respectivamente), sob dois valores de pH da solução nutritiva, no diâmetro do colmo (DC), altura do colmo (AC), altura da planta (H. PLTA), número de folhas vivas (NFV), área foliar (AF), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) de mudas de cana-de-açúcar, por 30 dias. Letras maiúsculas e minúsculas iguais demonstram não haver diferença em relação às concentrações de pH e B, respectivamente, pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade. 28
- Tabela 2.** Efeito do fornecimento das concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) e de Al (0, 20, 40 e 60 mg L⁻¹) no diâmetro do colmo (DC), altura do colmo (AC), altura da planta (H.PLTA), número de folhas vivas (NFV), número de folhas mortas (NFM), área foliar (AF), volume radicular (VR), massa seca da raiz (MSR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca do tolete (MST) em mudas de cana-de-açúcar após 30 dias. Médias com letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.....29
- Tabela 3.** Algumas das variáveis biométricas das plantas de cana-de-açúcar que permaneceram por 30 dias na solução nutritiva sem receber boro B e Al. Médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade. 31
- Tabela 4.** Efeito do fornecimento das concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) no teor de nitrogênio e proteína bruta (PB) em mudas de cana-de-açúcar submetidas a diferentes concentrações de Al por 30 dias. Letras maiúsculas e minúsculas iguais demonstram não haver diferença em relação às concentrações de B e Al, respectivamente, pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.....54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Temperatura e umidade máximas e mínimas da casa de vegetação durante a execução do experimento.	19
Figura 2. Recipientes utilizados para colocar a solução nutritiva e acomodar os potes com as mudas de cana-de-açúcar.	20
Figura 3. Minitoletes utilizados para obtenção das mudas (A) e mudas germinadas em copos de plásticos de 500 mL sendo irrigadas (B).	20
Figura 4. Determinação do diâmetro das mudas de cana-de-açúcar com auxílio de paquímetro digital (A) e medição do comprimento e largura da folha +1 para determinação da área foliar (B).	23
Figura 5. Esquema da coleta de discos e determinação do índice de extravasamento de eletrólitos, proposto por Dionisio-Sese e Tobita (1998).	24
Figura 6. Sequência da realização do teste de coloração das raízes com hematoxilina permitindo a visualização da intensidade das concentrações de Al absorvidas pelas raízes.	25
Figura 7. Quantificação de açúcares totais sendo realizada de acordo com Du Bois et al., (1956) (A) e curva de sacarose para quantificação de açúcares e sacarose (B).	26
Figura 8. Efeito do fornecimento das concentrações de 15, 30 e 60 mmol L ⁻¹ de B (B1, B2 e B3) nas variáveis biométricas de mudas de cana-de-açúcar submetidas a diferentes concentrações de Al por 30 dias. ** e * significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente. ^{ns} : não significativo pelo teste F. Letras maiúsculas e minúsculas iguais demonstram não haver diferença em relação às concentrações de B e Al, respectivamente, pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.	32
Figura 9. Efeito do fornecimento de diferentes concentrações de alumínio (Al) sobre o sistema radicular de mudas de cana-de-açúcar durante 30 dias sem o fornecimento de Boro.	33
Figura 10. Efeito do fornecimento das concentrações de 15, 30 e 60 mmol L ⁻¹ de B (B1, B2 e B3) nas variáveis da raiz (A e B), números de perfilhos (C) e massa seca do tolete (D) submetidas a diferentes concentrações de Al por 30 dias. ** e * significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente. ^{ns} : não significativo pelo teste F. Letras maiúsculas e minúsculas iguais demonstram não haver diferença em relação às	

concentrações de B e Al, respectivamente, pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.....34

Figura 11. Efeito do fornecimento das concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) sobre o sistema radicular de mudas-de-açúcar submetidas ao estresse provocado pelo Al por 30 dias. 35

Figura 12. Efeito da suplementação de Boro em mudas de cana-de-açúcar antes, durante e depois da exposição ao efeito tóxico do Al, na altura e diâmetro do colmo (A) e sistema radicular (B). 37

Figura 13. Efeito da suplementação de Boro antes, durante e depois da exposição ao efeito tóxico do Al, na altura e diâmetro do colmo (A e B), altura da planta (C), área foliar (D), massa seca da raiz e da parte aérea (E e F) de plantas de cana-de-açúcar, por 30 dias. ** e * significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente. ^{ns}: não significativo pelo teste F. Letras maiúsculas e minúsculas iguais demonstram não haver diferença em relação às concentrações de B e Al, respectivamente, pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade. 38

Figura 14. Efeito do fornecimento das concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) e da época em que foram fornecidas (antes, durante e depois) em relação a exposição ao Al, no índice de extravasamento de eletrólitos (A e B), e no rendimento quântico do FSII (Fv/Fm) (C e D) de plantas de cana-de-açúcar, por 30 dias. ** e * significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente. ^{ns}: não significativo pelo teste F. Letras iguais demonstram não haver diferença em relação as concentrações de B (A e C) e as épocas de suplementação (B e D) pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade. 40

Figura 15. Coloração com hematoxilina para visualização da distribuição e/ou concentração de Al em zonas radiculares de mudas de cana-de-açúcar expostas a diferentes concentrações de Al (0, 20, 40 e 60 mg L⁻¹) durante 3 dias. As raízes utilizadas são representativas de 4 plantas individuais (repetições). 42

Figura 16. Coloração com hematoxilina para visualização da distribuição e concentração de Al em zonas radiculares de mudas de cana-de-açúcar que foram expostas a diferentes concentrações de Al (20, 40 e 60 mg L⁻¹) juntamente com concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) durante 3 dias. As raízes utilizadas são representativas de 4 plantas individuais (repetições). 43

- Figura 17.** Coloração com hematoxilina para visualização da distribuição e concentração de Al em zonas radiculares de mudas de cana-de-açúcar pré-tratadas com concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) durante 3 dias e depois expostas a diferentes concentrações de Al (20 e 60 mg L⁻¹) por mais 3 dias. As raízes utilizadas são representativas de 4 plantas individuais (repetições). 43
- Figura 18.** Coloração com hematoxilina para visualização da distribuição e concentração de Al em zonas radiculares de mudas de cana-de-açúcar pré-tratadas com diferentes concentrações de Al (20 e 60 mg L⁻¹) por 3 dias e depois expostas a concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) por mais 3 dias. As raízes utilizadas são representativas de 4 plantas individuais (repetições). 44
- Figura 19.** Classes de acúmulo de Al em raízes, adaptadas para cana-de-açúcar, por meio de teste de coloração pela hematoxilina. (A) coifa; (B) meristema apical (região de divisão celular) e região de alongamento celular e (C) região de maturação (região basal). Fonte: (Oliveira, 2012). 44
- Figura 20.** Efeito do fornecimento das concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) na concentração de açúcares totais (A e B) e sacarose (C e D) em folhas de mudas de cana-de-açúcar submetidas a diferentes concentrações de Al por 30 dias. ** e * significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente. ^{ns}: não significativo pelo teste F. Letras maiúsculas e minúsculas iguais demonstram não haver diferença em relação às concentrações de B e Al, respectivamente, pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade. 49
- Figura 21.** Efeito do fornecimento das concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) na concentração de B na parte aérea (P.A) (A e B) e na raiz (C e D) em plantas de cana-de-açúcar submetidas a diferentes concentrações de Al por 30 dias. ** e * significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente. ^{ns}: não significativo pelo teste F. Letras maiúsculas e minúsculas iguais demonstram não haver diferença em relação às concentrações de B e Al, respectivamente, pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.....50
- Figura 22.** Efeito do fornecimento das concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) na concentração de aminoácidos (AA) (A e B) e nitrato (C e D) em folhas de mudas de cana-de-açúcar submetidas a diferentes concentrações de Al por 30 dias. ** e * significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente. ^{ns}: não

significativo pelo teste F. Letras maiúsculas e minúsculas iguais demonstram não haver diferença em relação às concentrações de B e Al, respectivamente, pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade. 52

1. INTRODUÇÃO

A toxidez por alumínio (Al) é um dos principais fatores limitantes da produtividade agrícola em solos ácidos (Karthika e Sathyaseelan, 2019; Shetty et al., 2021; Yang et al., 2022). Quando o pH do solo é menor que 5,5, e na presença do Al, o mesmo solubiliza-se na solução do solo, tornando-se potencialmente tóxico para as plantas (Ma et al., 2014; Guo et al., 2018). Especificamente, o Al pode prejudicar o desenvolvimento das plantas tanto pelo efeito deletério direto sobre os tecidos vivos das plantas (Maia et al., 2018; Yang et al., 2022), como também pelo efeito indireto, dificultando a absorção de água e nutrientes (Chen et al., 2010; Silva et al., 2010; Guo et al., 2018).

As extremidades das raízes são as mais afetadas e, sua resposta ao Al ocorre de maneira bem rápida o que indica que em primeiro momento o Al inibe a expansão e alongação das células das raízes, e depois a divisão celular também passa a ser inibida (Kochian, 1995; Oliveira, 2012; Ecco et al., 2014). A acidez do solo e, consequentemente a toxicidade do Al, nas camadas superiores do solo podem ser facilmente corrigidas pela calagem. Entretanto, devido a lenta mobilidade do material corretivo, a aplicação superficial não é efetiva na correção da acidez do solo sub superficial (Favaretto et al., 2007; Raij, 2011). Outros esforços têm sido feitos para melhorar o crescimento e desenvolvimento das culturas em ambientes com solos ácidos, tais como a identificação ou o desenvolvimento de cultivares tolerantes (Zhu et al., 2003; Ecco et al., 2014, Maia et al., 2018, Sousa et al., 2018). No entanto, ainda não foi desenvolvida uma cultivar de cana-de-açúcar que seja altamente tolerante ao efeito do Al (Riaz et al., 2018a).

Alguns relatos têm sugerido que o efeito do Al pode ser mitigado por meio da suplementação adicional de nutrientes, em diferentes culturas como: Cedro com Ca^{2+} e Mg^{2+} (Takami et al., 2005), soja com Ca^{2+} , B e Mg^{2+} (Yang et al., 2004; Silva et al., 2005), Cevada com Ca^{2+} (Guo et al., 2006), feijoeiro com B (Stass et al., 2007), ervilha com B (Yu et al., 2009; Li et al., 2017a), linho com B (Heidarabadi et al., 2011), Citros com B (Arunakumara et al., 2012; Zhou et al., 2015), trigo com B (Barbosa et al., 2017). Dentre os nutrientes suplementados para essa finalidade, o Boro parece ter potencial de ser um dos mais promissores (Yu et al., 2009; Barbosa et al., 2017; Li et al., 2017;

Riaz et al., 2018a; Zhu et al., 2019). Esses estudos indicam que, sob a toxicidade do Al, o B pode melhorar, entre outras características, o alongamento das raízes, contribuir com melhorias no crescimento da parte aérea e a atividade da fotossíntese, influenciar na imobilização do Al e restringir a entrada de Al na parede celular, aliviando, dessa forma, a toxicidade nas plantas.

Os sintomas da deficiência de B e da toxicidade do Al são muito semelhantes, afetando principalmente a função da membrana e o crescimento das raízes (Blevins e Lukaszewski, 1998). Além disso, o $\text{Al}(\text{OH})_3$ é estruturalmente semelhante ao $\text{B}(\text{OH})_3$ (Kochian, 1995). Nesse sentido, devido à semelhança estrutural entre as moléculas e ao compartilhamento de um efeito comum da inibição do crescimento radicular, espera-se uma forte interação entre B e Al.

No entanto, dados disponíveis sobre a interação nutrientes/Al em plantas ainda são considerados limitados (Silva et al., 2005; Zhou et al., 2015), portanto, necessitando de mais estudos sobre esse assunto (Corrales et al., 2008; Li et., 2018;). No caso do B, as informações existentes, a respeito desse tema, ainda são restritas a um número pequeno de plantas, principalmente não-gramíneas (Heidarabadi et al., 2011; Zhou et al., 2015; Barbosa et al., 2017). Além dos aspectos nutricionais, a interação nutrientes/Al pode estar relacionada a forma e época de aplicação do nutriente, bem como às particularidades da espécie, uma vez que possuem mecanismos diferentes de resistência ao Al (Corrales et al., 2008; Sousa et al., 2018).

Nesse sentido, culturas como a cana-de-açúcar merecem atenção quanto a essa interação, visto que é uma das principais fontes de energia primária no Brasil e no mundo (Maia et al., 2018) e até a presente data não se tem conhecimento do papel mitigador do B em relação a toxicidade do Al na cana-de-açúcar. Além da ausência de trabalhos relatando esse assunto com a cultura da cana, nos últimos anos seu cultivo, no Brasil, tem se expandido para áreas caracterizadas por solos ácidos e pobres em nutrientes (Sousa et al., 2007).

Nesse trabalho foram testadas duas hipóteses. A primeira é a de que o suprimento de B mitiga a toxicidade do Al no crescimento de plantas de cana-de-açúcar, e a segunda é a de que ocorre efeitos distintos quando a suplementação de B ocorre antes, durante ou após a exposição ao Al. Portanto, com o presente estudo,

o objetivo foi investigar se plantas de cana-de-açúcar suplementadas com B têm maior tolerância ao efeito tóxico do alumínio.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais da cana-de-açúcar no Brasil

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp) é uma das gramíneas mais cultivadas nas regiões tropicais, sendo o Brasil o maior produtor. A maior parte de sua produção se concentra nas regiões Centro-Sul e Nordeste (Unica, 2018). Dada a demanda pelos mercados interno e externo por combustíveis renováveis, açúcar e bioenergia, a cana tem se tornado cada vez mais importante no cenário nacional (Unica, 2017). A cana-de-açúcar junto com seus derivados constitui a segunda maior fonte de energia primária na matriz energética brasileira (Maia et al., 2018).

No levantamento de safra feito em novembro de 2021 a produção de cana-de-açúcar finalizou com 568.430,2 mil toneladas colhidas (redução de 13,2% ao resultado obtido no exercício passado), e estima-se uma área de 8.264,4 mil hectares previstos para a produção de cana-de-açúcar na atual temporada (Conab, 2021). De acordo com Meneguetti (2010), essa boa produção da cultura em alguns estados do Brasil é resultado de alguns fatores como, por exemplo, condições edafoclimáticas propícias para o seu cultivo. No entanto, nos últimos anos tem ocorrido grande expansão do cultivo da cana-de-açúcar no país (Caldarelli e Gilio, 2018).

Entre as regiões para as quais a cultura da cana avançou, destaca-se a região oeste do estado de São Paulo e áreas de cerrado brasileiro. Essas regiões são caracterizadas por solos ácidos, com elevados teores de elementos tóxicos como Al e deficiência generalizada de nutrientes, como o Boro (Sousa et al., 2007; Brito, 2014). Com isso, novos esforços cada vez mais são necessários para garantir um bom rendimento dessa cultura. Entre as técnicas adotadas para melhorar o desempenho da cana-de-açúcar nesses ambientes de produção, destacam-se o melhoramento vegetal e/ou de manejo do solo (Brito, 2014).

A calagem tem sido uma das técnicas mais utilizada. No entanto, essa prática resolve o problema de forma parcial, pois, o calcário tem mobilidade limitada e sua

ação é restrita às camadas superficiais do solo (Raij, 2011). A cana-de-açúcar por sua vez, pode desenvolver suas raízes a uma profundidade de até 2 metros no solo (Inforzato, 1957; Vasconcelos et al., 2004). A busca por plantas tolerantes e que tenham bom desempenho a esses ambientes tem sido considerada uma alternativa para aumentar a produção agrícola (Ecco et al., 2014; Maia et al., 2018), e o fornecimento de nutrientes específicos como boro para essas plantas pode ajudar no mecanismo de tolerância a ambientes limitantes, como o da área de expansão da cana-de-açúcar (Li et al., 2017a; Riaz et al., 2018a).

2.2 Toxidez do Alumínio em plantas

A toxicidade do Al é um dos principais fatores que limita a produtividade das culturas agrícolas em solos ácidos. Na crosta terrestre é o elemento metálico mais abundante e o terceiro mais abundante de todos os elementos depois de oxigênio e silício (Panda et al., 2009; Sade et al., 2016). O Al é um dos principais constituintes do solo e pode se dissociar em várias formas iônicas entre essas o Al, a forma mais tóxica (Panda et al., 2009; Kochian et al., 2015).

Quando o pH do solo se encontra abaixo de 5,5, caracterizado como ácido, as argilas de aluminossilicato e minerais de hidróxido de alumínio começam a se dissolver, liberando cátions alumínio-hidroxi e Al (Simoes et al., 2012). Aproximadamente 30% da área total do planeta e 50% das terras aráveis do mundo são ácidas e sofrem problemas com Al, sendo esses responsáveis de 25 a 80% da produção vegetal (Sade et al., 2016; Bojórquez-Quintal et al., 2017).

A acidificação do solo pode ocorrer devido a processos naturais e / ou antropogênicos. No entanto, a maioria dos solos ácidos ocorre nos trópicos e subtropicais, onde a acidificação é um processo natural e que pode ser potencializado com ação antrópica (Kochian et al., 2015; Bojórquez-Quintal et al., 2017). Considerando que muitos países em desenvolvimento estão localizados onde se encontra a maioria desses solos, a toxicidade do Al limita a produção agrícola e passa a ser um fator de grande importância (Kochian et al., 2005; Kochian et al., 2015).

O Al pode prejudicar o desenvolvimento das plantas tanto pelo efeito deletério direto sobre os tecidos vivos das plantas (Brito, 2014; Maia et al., 2018), como também pelo efeito indireto, dificultando a absorção de água e nutrientes pelas raízes

intoxicadas (Chen et al., 2010; Silva et al., 2010; Guo et al., 2018). O Al é um elemento altamente reativo, e por isso, existem inúmeros mecanismos de toxicidade envolvendo a parede celular e a membrana plasmática, podendo modificar sua estrutura, bem como as estruturas iônicas próximas (Jones et al., 2006; Zhang et al., 2007; Bose et al., 2011).

O sistema radicular é a parte da planta mais afetada pelo Al, sua resposta a esse elemento ocorre de maneira bem rápida o que indica que num primeiro momento o Al inibe a expansão e alongação das células das raízes, e depois a divisão celular também passa a ser inibida (Oliveira, 2012; Ecco et al., 2014). A principal característica nas raízes afetadas é a inibição do seu crescimento tornando-se mais curtas e grossas, suas extremidades são as mais afetadas com ausências de ramificações terminais (Maia et al., 2018; Sousa et al., 2018; Riaz et al., 2018). Considerando que as raízes são o principal órgão para as plantas absorverem água e nutrientes do meio de crescimento, a toxicidade por Al afeta inevitavelmente a capacidade das plantas de adquirir esses recursos em solos ácidos. Isso ocorre devido tanto à diminuição do volume radicular quanto pelo efeito direto no transporte e no metabolismo dos nutrientes nas plantas (Zhao et al., 2018).

Além de afetar a divisão celular na raiz, estudos têm mostrado que o Al aumenta a rigidez da parede celular pela reticulação de pectinas, reduz a replicação do DNA, aumentando a rigidez da dupla hélice, fixa o fósforo nas formas menos disponíveis nos solos e nas superfícies das raízes das plantas, diminui a respiração das raízes, interfere com várias enzimas, diminui a deposição de polissacarídeos da parede celular, diminui a produção e o transporte de citocininas e modifica a estrutura e a função das membranas plasmáticas (Zhang et al., 2014; Sade et al., 2016; Eekhout et al., 2017; Bojórquez-Quintal et al., 2017). O Al também pode afetar direto e indiretamente outros órgãos e funcionalidades da planta como a diminuição a assimilação de CO₂ e todo sistema fotossintético (Jiang et al., 2009; Riaz et al., 2018), a condutância estomática e taxa de transpiração (Chen et al., 2016; Rahman et al., 2018; Zhao et al., 2018).

Apesar da acidez do solo e conseqüentemente a atividade do Al nas camadas superiores do solo serem facilmente corrigidas com a prática da calagem, essa prática

resolve o problema de forma parcial, pois, o calcário tem mobilidade limitada e sua ação é restrita às camadas superficiais do solo (Raij, 2011). O gesso agrícola tem sido apontado como sendo outra opção, porém, não possui efeito corretivo, pois, o gesso é um sal neutro não apresentando efeitos diretos práticos na redução da acidez dos solos, o que pode inviabilizar sua utilização (Costa, 2011; Oliveira, 2012).

2.3 Mecanismo de tolerância ao Alumínio

O conceito de tolerância ao Al há muito esteve associado com a capacidade de manter a divisão e alongamento celular, e a viabilidade dos tecidos meristemáticos, mesmo sob condições de estresse, para a formação de novos tecidos (Foy et al., 1984). Atualmente ainda tem sido bastante citado pela literatura (Ecco et al., 2014; Kochian et al., 2015; Maia et al., 2018).

As plantas desenvolveram diferentes mecanismos de tolerância para combater os efeitos tóxicos do Al. Esses mecanismos podem ser divididos em duas classes: mecanismos de exclusão ou resistência ao Al, com a função de evitar ou minimizar a entrada de Al na célula; e mecanismos de tolerância interna que compartimentam o Al nos vacúolos ou os estabilizam para inibir sua toxicidade (Kochian, 1995; Ma e Furukawa, 2003; Bojórquez-Quintal et al., 2017).

Entre os mecanismos de exclusão ou resistência ao Al pode ser citadas as alterações no pH da rizosfera, isto é, pequeno incremento no pH das rizosferas que pode reduzir a solubilidade, atividade, toxicidade e conteúdo de Al nas plantas através da exclusão do Al no apoplasto da raiz (Yang et al., 2011); Alterações na composição da parede celular e propriedades da membrana plasmática (Che et al., 2016; Zhang et al. 2016) e excreção de moléculas quelantes e secreção de mucilagem. Esse último é o mecanismo de exclusão de Al mais amplamente descrito em plantas, com uma ampla variação natural em diferentes culturas (Brunner e Sperisen, 2013; Kochian et al., 2015).

A resistência ao Al via exclusão de Al do ápice da raiz, o principal local de toxicidade do Al, envolve a liberação regulada de compostos orgânicos da ponta da raiz. A exsudação de ácidos orgânicos como o malato, citrato e oxalato, liberado pela raiz, atualmente é considerada um dos principais mecanismos relacionados à tolerância ao Al. De acordo com a literatura existente sobre a atuação desses ácidos,

após serem liberados formam um tipo de complexação do Al em formas não tóxicas protegendo o ápice da raiz e permitindo o seu crescimento (Delhaize e Randall, 1993).

Vale citar que o malato e o citrato estão presentes em todas as células vegetais, uma vez que fazem parte do ciclo do ácido tricarboxílico nas mitocôndrias, enquanto o oxalato participa da regulação do Ca e da desintoxicação de metais (Brunner e Sperisen, 2013). Além da liberação desses ácidos, a exsudação de outros compostos orgânicos na raiz tem sido sugerida para a quelação de Al (Kochian et al., 2015); no entanto, pouco se sabe sobre seu mecanismo de ação. Estudos em *Eucalyptus camaldulensis*, por exemplo, revelaram secreção na raiz de um ligante com ligação de baixo peso molecular (Tahara et al., 2009). Assim como em plantas de chá, um aumento na liberação de cafeína, um composto fenólico, foi observado em resposta à exposição ao Al (Morita et al., 2011).

No que se refere aos mecanismos de tolerância interna, a quelação de alumínio no citosol, a presença de transportadores de alumínio na membrana plasmática e a compartimentalização vacuolar parecem serem os principais (Hartwig, 2007; Hwang et al., 2016; Bojórquez-Quintal et al., 2017). O transporte através de membranas biológicas requer proteínas de transporte. Nas plantas, o transporte de Al através da membrana plasmática e do vacúolo não foi amplamente estudado (Bojórquez-Quintal et al., 2017).

Algumas espécies de plantas, incluindo hortênsia, trigo sarraceno, *Melastoma malabathricum* e chá (*Camellia sinensis*), são capazes de translocar e acumular Al nos brotos para concentrações acima de 1.000 mg kg⁻¹, as vezes excedendo 3.000 mg kg⁻¹ (Kochian et al., 2015).

Em uma revisão abrangente sobre esse assunto elaborada por Kochian et al. (2015) é citado que áreas de pesquisa recentemente emergentes envolvem diferentes aspectos da resistência ao Al, como a identificação e caracterização funcional das vias de sinalização e regulação de Al que mediam a regulação transcricional, pós-transcricional e pós-traducional dos genes e proteínas de resistência ao Al.

Ainda com base nessa revisão, é possível observar que o campo avançou ao ponto de os pesquisadores começarem a usar variações tanto nos componentes

estruturais quanto nas vias de sinalização e redes relacionadas à resistência diferencial ao Al para melhorar as culturas via melhoramento molecular e biotecnologia para agricultura em solos ácidos, o que limita a agricultura em muitos países.

2.4 Importância da nutrição mineral na mitigação do efeito do Alumínio

Como parte da seleção natural, as plantas desenvolveram alguns mecanismos específicos para lidar com a toxicidade do Al. O mecanismo de exclusão, por exemplo, é amplamente conhecido e mencionado como a principal forma que as plantas utilizam para tolerar o efeito tóxico do Al. No entanto, nem todas as plantas possuem esses mecanismos, podendo ocorrer variação até mesmo entre espécies que possuem.

Várias estratégias convencionais para agricultores têm sido propostas para melhorar a toxicidade do Al e / ou diminuir o acúmulo de Al como, por exemplo, o uso da calagem, fosfatagem, desenvolvimento de cultivares tolerantes, entre outros (Chen et al., 2016). No entanto, vale ressaltar que a aplicação contínua de produtos como o P e o calcário no solo não é apenas cara, mas também pode oferecer uma série de risco (Matsumoto e Motoda, 2012), por outro lado, o desenvolvimento de uma variedade com novas características pode levar vários anos, e todo o processo envolve uma quantidade considerável de tempo e custos (Collard e Mackill, 2008). Portanto, alternativas de baixo custo, eficazes e ecologicamente corretas, são muito procuradas.

Em uma revisão completa sobre a importância da nutrição mineral na mitigação do efeito do Al, desenvolvida por Rahman et al. (2018), é apontado um grande número de estratégias que têm sido exploradas para mitigar a toxicidade do Al nas plantas em solos ácidos. A maioria delas pode ser dividida em duas classes: alterações orgânicas, como fertilizantes organo-minerais, bactérias promotoras de crescimento de plantas, biochar derivados de plantas e sua combinação com outros minerais (Panhwar et al., 2014; Panhwar et al., 2015), e alterações inorgânicas, como aplicação exógena de elementos minerais, incluindo Ca, Mg, P, S, B e Si, e óxido / hidróxido (Silva et al., 2001; Yu et al., 2009; Zhou et al., 2015; Guo et al., 2017; Teng et al., 2018).

Estudos têm relatado efeitos benéficos do Ca na melhoria da toxidez do Al em culturas cultivadas em ambientes ácidos, que refletiram em aumento na produção em culturas como trigo (Caires et al., 2002; Zakir et al., 2005), cevada (Guo et al., 2006), tomate (Tuna et al., 2007), soja (Silva et al., 2005; Bachiega et al., 2007), entre outras. Como o Ca é um nutriente extremamente importante na divisão celular, porém, de baixa mobilidade na planta, isto é, pouco translocado via xilema, a absorção por qualquer região na raiz e translocação para sua extremidade é importante na atenuação da atividade tóxica do Al e contínuo crescimento da raiz (Canal, 1980).

Existem relatos de que o Ca aliviou a toxicidade do Al através de vários mecanismos como: deslocamento do Al da superfície da membrana celular (DSMC) através de efeito eletrostático; restauração de Ca^{2+} no DSMC; e interação iônica entre Ca^{2+} e Al^{3+} que ocorreu na superfície celular e no espaço livre de Donnan (DFS) das células raiz (Noble e Sumner, 1988; Kinraide, 1998).

Hossain et al., (2014) analisando o papel do cálcio no alívio da lesão provocada por Al em plantas de trigo, observaram que a lesão grave provocado pelo Al foi encontrada apenas nas plantas com menor oferta de Ca antes do tratamento com Al. Além disso, o teor de Al nas raízes diminuiu com o aumento do fornecimento de Ca antes do tratamento com Al. Sob condições de estresse de Al, a planta respondeu ao Al de maneiras diferentes, devido não apenas ao suprimento diferente de Ca, mas também à variação do conteúdo de Ca nos tecidos da planta.

Na cultura da cevada, Guo et al., (2006) observaram que a adição de Ca diminuiu eficientemente a toxicidade do Al, o que refletiu no aumento do crescimento das plantas, diminuição da concentração de Al e do conteúdo de MDA (nível de peroxidação lipídica), aumento na concentração de Ca e nas atividades de enzimas antioxidativas como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POD) em comparação com o tratamento com Al.

O Mg é outro nutriente que desempenha papel vital no crescimento e desenvolvimento das plantas e também alivia a toxicidade do Al (Rangel et al., 2015). A aplicação exógena de Mg mitiga a toxicidade do Al principalmente através do aumento da força iônica da solução (Noble e Sumner, 1988); diminuindo a saturação

de Al no espaço fora da membrana plasmática, diminuindo a atividade do Al nas células da raiz (Grauer e Horst, 1992).

Bose et al. (2013) verificaram que vários mecanismos do Mg mediam o alívio da toxicidade do Al nas plantas. Dentre esses citam a regulação intercelular dependente de Mg na exsudação de ácidos orgânicos, estimulação da atividade da H⁺-ATPase, modulação dos picos citosólicos livres de Ca²⁺ e regulação da homeostase de espécies reativas do oxigênio sob a toxicidade do Al nas plantas. Silva et al. (2001) também observaram uma exsudação significativa de citrato com a aplicação de 50 µM de Mg na cultura da soja sob efeito tóxico do Al. Curiosamente, as mudas de soja pré-tratadas com Mg levaram a induzir a secreção de citrato dentro de 1 h após a exposição ao Al. Vale lembrar que a exsudação de ácidos orgânicos é uma das melhores estratégias para a exclusão de Al fitotóxico em várias espécies de plantas em solos ácidos (Chen et al., 2016).

Com relação ao P, sua deficiência juntamente com a toxicidade do alumínio são os principais fatores limitantes para o crescimento das plantas em solos ácidos. Pois, nessas condições, o fosfato inorgânico geralmente é fixado por óxidos de Al/Fe tornando-se crítico quando o pH cai, o resultado é uma severa limitação de P (Chen et al., 2016). Nesse sentido, a aplicação adequada e/ou suplementar de P é crucial e contribui para aliviar a toxicidade do Al conforme observado em várias plantas, como sorgo (Tan e Keltjens, 1990), trigo (Zheng et al., 2005; Iqbal, 2013), arroz (Nakagawa et al., 2003) e citrus (Jiang et al., 2009), em solos ácidos.

Trabalhando com trigo, Iqbal (2013) observou que o conteúdo de P nas plantas foi amplamente diminuído pelo estresse Al (150 mg AlCl₃ kg⁻¹ solo). Após a adição de P exógeno (160 mg P kg⁻¹ solo) o nível do pH foi equilibrado e refletiu em aumento do nível de P no solo. Jiang et al. (2009) observaram que o P aliviou a inibição do crescimento em citrus induzida por Al e o comprometimento de toda a cadeia fotossintética de transporte de elétrons do lado doador do fotossistema II (PSII) até a redução de receptores finais do fotossistema I (PSI) através do aumento da imobilização de Al nas raízes e do nível de P nas raízes e na parte aérea, evitando a diminuição da assimilação de CO₂.

Vale citar que diversas estratégias podem ser exploradas para a produção de plantas sob toxicidade de Al e deficiência de P em solos ácidos. Ch'ng et al. (2014), por exemplo, sugerem aumentar a disponibilidade de P adicionando matéria orgânica no solo (por exemplo, biocarvão, composto, etc.), pois observaram que o total de P e Pi (fosforo inorgânico) foram aumentados e fixavam o Al e/ou Fe tóxico após adição desses materiais em solo ácido.

Em relação ao enxofre (S), vários estudos forneceram evidências de que componentes contendo S aliviam a toxicidade do Al no trigo (Zhang et al., 2010), cevada (Dawood et al., 2012), colza (Qian et al., 2014) e citrus (Guo et al., 2017). De acordo com esses estudos, o S mitiga a toxicidade do Al principalmente por meio do aumento da atividade antioxidante, diminuição dos níveis de espécie reativas do oxigênio, peroxidação lipídica, diminuição da captação de Al nas raízes e brotações; aumento da absorção de vários nutrientes, como fósforo (P), magnésio (Mg) e cálcio (Ca). Além disso, verificaram também que o S pode aumentar a secreção ácidos orgânicos a partir das raízes das plantas.

Embora sejam nutrientes, não se tem informações consideráveis nas literaturas existentes sobre o papel do K, Mn, Zn e Mo no alívio da toxicidade do Al nas plantas (Rahman et al., 2018). O boro, por sua vez, parece ter potencial de ser um dos mais promissores (Yu et al., 2009; Barbosa et al., 2017; Li et al., 2017; Riaz et al., 2018; Zhu et al., 2019). Em função disso, sua interação com o Al será discutida separadamente.

2.5 Boro no Solo

O boro é considerado essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas e sua disponibilidade no solo é um importante determinante da produção agrícola (Tanaka e Fujiwara, 2008). No solo, esse nutriente existe principalmente na forma de ácido bórico não dissociado na faixa de pH entre 4 a 8, podendo ser facilmente lixiviado em condições de alta pluviosidade, o que pode fazer com que as plantas manifestem sintomas de deficiência (Yan et al., 2006; Martello, 2016).

De acordo com a classificação elaborada por RAIJ et al. (1996) os teores de B no solo, e relativa disponibilidade para as plantas são definidas como: alta quando se encontram acima de $0,6 \text{ mg dm}^{-3}$, média entre $0,2$ e $0,6 \text{ mg dm}^{-3}$ e baixa quando

estão abaixo de $0,2 \text{ mg dm}^{-3}$. A concentração de boro e sua biodisponibilidade nos solos são afetados por vários fatores, incluindo material original, textura, natureza dos minerais da argila, pH, calagem, conteúdo de matéria orgânica, fontes de irrigação, inter-relação com outros elementos e condições ambientais, como chuvas moderadas a fortes e alta intensidade de luz (Moraghan & Mascagni, 1991).

Entre os micronutrientes, o boro é o que mais frequentemente é deficiente em solos brasileiros, onde várias culturas costumam apresentar sintomas de deficiência visual em crescimento (Moreira et al. 2000; Franco et al., 2011; Martinelli, 2016). Num estudo feito por Abreu et al. (2005), onde foi analisado o teor de micronutrientes na camada do solo de 0-20 cm em 21 estados brasileiros, constatou-se que quase metade das amostras estão na classe de baixa disponibilidade de B para a maioria das culturas, 42% estão na classe média e apenas 15% apresentaram alto teor de B.

No estado de São Paulo, em áreas de cultivo de cana-de-açúcar, Vale e Vitti (2008) analisaram mais de 800 amostras de solo e respectivas análises foliares. Esses autores constataram em quase 100% das áreas amostradas, os teores de B no solo encontram-se abaixo do nível crítico para a cultura. Além disso, sintomas de deficiência generalizada de B no tecido foliar, também foram observados em 91% das lavouras amostradas.

O pH do solo é um dos fatores mais importantes que afetam a disponibilidade de B, de modo que sua biodisponibilidade se torna menor em pH mais alto na solução. Consequentemente, práticas como a calagem em solos ácidos, em quantidades excessivas, às vezes pode tornar as plantas deficientes em B (Niaz et al., 2007; Shafiq et al., 2008). Wear & Patterson (1962), por exemplo, em um de seus trabalhos clássicos, observaram que a absorção de B pelas plantas no solo, foi maior quando o pH da solução do solo foi menor. Entretanto, é sabido que a disponibilidade de boro é maior na faixa de pH do solo de 5,0 a 7,0 e novamente a disponibilidade aumenta acima do pH do solo 8,5.

A textura do solo é outro fator relevante no que diz respeito a disponibilidade do B. Solos de textura grossa geralmente contêm menos B disponível do que solos de textura fina (Raza et al., 2002; Malhi et al., 2003). Provavelmente pode ser uma das razões pelas quais as deficiências de B nas plantas de cultivo são frequentemente

observadas em solos arenosos (Gupta, 1968; Fleming, 1980). Ainda de acordo com esses estudos, a adsorção de boro em solos com textura fina é maior em comparação com os solos com textura grossa e média na mesma concentração de equilíbrio. Elrashidi & O'Connor (1982).

A matéria orgânica do solo (MOS) também tem influência significativa nos teores de B no solo. O boro associado aos colóides húmicos é o principal reservatório B para o crescimento das plantas na maioria dos solos agrícolas (Jones, 2003; Raza et al., 2002; Shafiq et al., 2008). Um dos estudos abrangentes para avaliar a influência da matéria orgânica do solo na disponibilidade de boro foi realizado por Berger e Troug (1945). Eles relataram uma aparente correlação, com coeficientes altamente significativos, entre matéria orgânica e disponibilidade de boro em solos ácidos. Embora o B presente na MOS não esteja imediatamente disponível para as plantas, essa é uma fonte importante de B disponível quando é liberado por mineralização (Gupta et al., 1985).

2.6 Boro na planta

Entre os micronutrientes, o B é essencial para o ótimo crescimento, desenvolvimento, rendimento e qualidade das culturas (Shireen et al., 2018; Kumar et al., 2018). Desempenha uma série de funções importantes nas plantas e está envolvido principalmente na síntese da parede celular e na integração estrutural (Riaz et al., 2018a; Landi et al., 2019; Brdar-Jokanovic, 2020).

Entre suas funções, o B é essencial para muitos processos fisiológicos de plantas tais como transporte de açúcares, metabólitos e hormônios, lignificação, estrutura da parede celular, metabolismo de carboidratos, metabolismo de RNA, respiração, metabolismo AIA, metabolismo fenólico, metabolismo de ascorbato, atividade de enzimas, germinação e crescimento do tubo polínico, fixação de nitrogênio nas leguminosas e micorrizas, entre outros (Shelp, 1993; Dordas et al., 2000; Bolaños et al., 2004; Goldbach e Wimmer, 2007; Sonmez et al., 2009; Barbosa et al., 2017; Li et al., 2017b; Flores et al., 2018). Além disso, desempenha um importante papel relacionado à membrana plasmática, que é manutenção de sua integridade (Prado, 2008; Marschner, 2012; Flores et al., 2018), pois o B está

envolvido no funcionamento proteico e enzimático da membrana celular (Shireen et al., 2018).

Conforme comentado, o B está ligado à síntese da parede celular e na manutenção de sua estrutura e integridade. Considerada a principal função desse elemento (Brdar-Jokanovic, 2020). O primeiro composto contendo B identificado no reino vegetal, considerado estável em condições fisiológicas, foi o polissacarídeo pártico ramnogalacturonan II (RGII), uma molécula na qual o B reticula dois monômeros de RGII por uma ponte de borato, proporcionando estabilidade à matriz da parede celular (O'Neill et al. 1996).

Com o avanço dos estudos foi possível confirmar que o B contribui para a formação de complexos glicosilinositol fosforilceramidas (GIPCs) e ramnoglacturonano-II (RG-II), conectando a membrana plasmática da célula com a parede celular (Voxeur et al., 2014; Wang et al. 2015; Li et al., 2017a; Landi et al., 2019) que controlam a resistência à tração e a porosidade da parede celular. Devido a esse papel, o B tem sido relatado como mitigador de estresse abiótico em plantas, como por exemplo, a toxicidade por Al (Yu et al., 2009; Zhou et al., 2015; Barbosa et al., 2017; Yang et al., 2022). Portanto, o fornecimento limitado de B reduz a formação de dímeros de RG-II na parede celular, resultando na formação de uma parede anormal e menos protegida (Ishii et al., 2001).

Considerando todas as funções do B descritas acima, não é novidade que o seu suprimento inadequado causa inúmeras alterações bioquímicas, fisiológicas e anatômicas (Landi et al., 2019; Brdar-Jokanovic, 2020). A interrupção da divisão celular no meristema apical é o efeito mais proeminente que resulta na redução e até na cessação do crescimento radicular, um dos principais sintomas da deficiência de B (Zhou et al., 2015; Barbosa et al., 2017; Li et al., 2017; Flores et al., 2018).

Sob severa deficiência, a calota radicular desaparece, o crescimento para e as pontas das raízes morrem. Além disso, a proporção broto/raiz aumenta e as plantas se tornam mais suscetíveis a secas e desequilíbrios nutricionais (Brdar-Jokanovic, 2020). De acordo com Blevins e Lukaszewski (1998), a cessação do crescimento radicular observada em condições de deficiência de boro, entre outros fatores, resulta da inibição da síntese de DNA, como resultado de déficits à base de pirimidina.

Embora o crescimento radicular seja mais sensível à deficiência de boro, a parte aérea também é prejudicada. Afetando inclusive a capacidade fotossintética e o transporte de produtos fotossintéticos (Goldbach e Wimmer, 2007; Wang et al., 2015; Li et al., 2017c). Além disso, foram encontrados em folhas de *Citrus sinensis* uma diminuição na condutância estomática e assimilação de CO₂, e um aumento nas concentrações intercelulares de CO₂ (Brdar-Jokanovic, 2020).

De modo geral, os sintomas de deficiência no campo são vistos nas partes jovens da planta com os internódios encurtados e as folhas com manchas necróticas e margens deformadas (Snowball e Robson, 1983; Rerkasem e Jamjod, 2004). Entretanto, vale ressaltar que geralmente a exigência de B é mais alta durante a fase reprodutiva do ciclo de vida de uma planta (Brdar-Jokanovic, 2020). Consequentemente, em condições de campo, o rendimento pode ser reduzido significativamente sem o aparecimento de sintomas visuais da deficiência (Dell e Huang, 1997).

O excesso de B no solo resulta em comprometimento do crescimento e alteração do metabolismo das plantas, causando necrose progressiva nas folhas, caules e malformações dos frutos (Reid et al., 2004; 2014). Além dos danos às partes aéreas da planta (folhas, caules, brotos e / ou frutos), foi relatado que a toxicidade de B afeta o crescimento das raízes em culturas, como trigo, cevada e milho (Choi et al., 2007; Aquea et al., 2012; Esim et al., 2013).

De acordo com estudos, de todo o conteúdo de B na planta, mais de 90% está localizado na parede celular das folhas (Hu et al., 1994; Shireen et al., 2018). Uma vez absorvido pelas raízes, o B é translocado principalmente para folhas maduras através de células do xilema, impulsionadas pela transpiração (Chatzissavvidis e Therios 2011). No entanto, em algumas espécies de plantas, incluindo muitos gêneros de culturas importantes como, por exemplo, *Pyrus*, *Malus*, *Prunus*, *Allium* e *Brassica*, verificou-se B distribuído uniformemente em toda a planta ou mesmo em uma concentração mais alta nos tecidos jovens do que nos adultos (Brown e Hu 1996; Camacho-Cristóbal et al., 2008). O que demonstra que, pelo menos, em algumas espécies de plantas, o B pode ser considerado móvel.

2.7 Boro na cana-de-açúcar

A aplicação de micronutrientes na cultura da cana-de-açúcar no Brasil é considerado uma prática recente e que não é muito difundida devido aos poucos estudos desenvolvidos nas condições brasileiras (Franco et al., 2011). No entanto, a expansão do cultivo da cana para ambientes com solos de baixa fertilidade e a utilização de variedades com maior potencial de produtividade fez se necessário mudanças no manejo de nutrientes, incluindo o uso de micronutrientes para obter alto rendimento.

A deficiência de B é comum ocorrer em solos de textura leve e pH alto, e em áreas de chuvas fortes, tempo seco e alta intensidade de luz (Kumar et al., 2018). Características que coincidem com as das aéreas de expansão da cana-de-açúcar (Madhuri et al., 2013; Maia et al., 2018). Além disso, o alto grau de intemperismo e o manejo corretivo inadequado, como a aplicação excessiva de calcário, contribuem ainda mais para a baixa disponibilidade de B (Prado, 2008).

Dos micronutrientes, o B está entre os mais limitantes para cana de açúcar (Mellis et al., 2008; Vale et al., 2008; Mellis et al., 2010;). De acordo com o trabalho clássico apresentado por Orlando Filho (1993) a cultura da cana-de-açúcar extrai cerca de 195 e 116 g de B para produzir 100 t de colmos industrializáveis e de folhas, respectivamente, totalizando 311 g de B. Entretanto, a magnitude de resposta a aplicação de B varia de espécie para espécie, dentro da mesma espécie e em diferentes solos para a mesma espécie (Kumar et al., 2018). Franco et al. (2011), por exemplo, observaram que com a aplicação B houve diminuição da biomassa acima do solo (toneladas de caules de cana por hectare) e da produção de açúcar na cana da planta.

Mesmo com poucos dados disponíveis relatando a nutrição de B em cana-de-açúcar, fica claro que a cultura responde com aumento de produtividade, tanto via radicular como por aplicações foliares (Malavolta, 1990; Adorna et al., 2013; Siqueira, 2014). O principal papel do B na cana-de-açúcar, tem sido atribuído como fator chave no metabolismo de carboidratos e transporte de açúcares através de membranas, que é altamente importante para a produção de cana-de-açúcar (Laksana et al., 2014).

Entre os principais sintomas de deficiência de B na cana-de-açúcar, pode ocorrer clorose de folhas imaturas, folhas distorcidas, particularmente ao longo das margens das folhas imatura, o meristema apical pode morrer, plantas jovens de cana tendem a ser frágeis e agrupadas com muitos perfilhos (Mabry et al. 2013; Laksana et al., 2014).

2.8 Interação Boro e Alumínio

Estudos indicam que, assim como o Al, a deficiência de B inibe o crescimento das raízes limitando o alongamento de suas células, isso por que o B é precursor na formação de paredes celulares primárias o que dá origem a uma parede celular estável e complexa (Riaz et al., 2018a), melhorando assim a propriedade física e bioquímica das paredes celulares (Fleischer et al., 1998). Blevins e Lukaszewski (1998) observaram que os sintomas da deficiência de B e da toxicidade do Al são muito semelhantes, afetando principalmente a função da membrana e o crescimento das raízes.

Portanto, devido à semelhança estrutural entre as moléculas (Kochian, 1995) e ao compartilhamento de um efeito comum da inibição do crescimento radicular, espera-se uma forte interação entre B e Al. Nesse sentido, a mitigação da toxicidade de Al em diferentes plantas por B tem sido relatada por pesquisadores (Yu et al., 2009; Barbosa et al., 2017; Riaz et al., 2018a). Esses autores têm defendido que o B pode restringir os sítios de ligação do Al, e, portanto, aliviando as consequências da toxicidade do Al na planta.

Em um trabalho realizado por Heidarabadi et al. (2011) avaliando a interação entre o boro e o alumínio e seus efeitos no metabolismo fenólico de raízes de Linho (*Linum usitatissimum* L.), observaram que o tratamento com Al não afetou o conteúdo de B das raízes, enquanto o tratamento com B, particularmente em concentrações mais altas, diminuiu o teor de Al das raízes comparado com as plantas controle. Além disso, a maior concentração de B impediu o efeito inibitório do Al no comprimento das raízes das plantas.

Mais recentemente Riaz et al. (2018a) analisando o efeito do boro na atenuação da toxicidade do alumínio na laranja trifólio, observaram que o efeito do Al sob deficiência de B prejudicou severamente o crescimento da raiz e a fisiologia da

planta, causando, portanto, estresse oxidativo e danos na membrana, refletindo em lesões graves e danos na raiz. Os autores verificaram também que com a aplicação de B em plantas sob efeito do Al, houve melhoria no alongamento da raiz e na fotossíntese, enquanto que houve redução na captação e mobilização de Al partes de plantas. Além disso, o suprimento de B regulou as atividades das enzimas antioxidantes como a prolina, metabolitos (fenilalanina amônia liase e polifenol oxidase) e manteve a integridade estabilizada de proteínas.

Jiang et al. (2009) relataram que a melhora induzida pelo B no crescimento da parte aérea e a inibição da fotossíntese, entre outros fatores podem ser devidas ao menor acúmulo de Al na parte aérea. Os mesmos autores também citam que mudanças induzidas por B na especiação de Al e / ou compartimentação subcelular seriam a razão por trás da melhora da inibição de raízes em citros, que anteriormente também foi afirmada por outros pesquisadores (Corrales et al. 2008). Vários possíveis mecanismos foram propostos para explorar a atenuação do efeito do Al induzido pelo B, podendo ser citado ainda o aumento da síntese de glutathione induzida por B (Ruiz et al. (2006), diminuição na pectina não-metilada nas paredes das células das pontas das raízes, diminuindo a ligação do Al aos compartimentos apoplásticos (Stass et al., 2005) entre outros.

Pesquisas indicam que o B poderia resgatar hemácias de morte celular induzida pela acumulação de mais Al na parede celular, predominantemente em pectina solúvel em álcalis (Li et al., 2017). Esses mesmos autores ao trabalhar com ervilha observaram que o micronutriente B promove a adsorção de Al e inibe a dessorção de Al a partir da pectina solúvel em álcalis. Assim, mais Al é imobilizado dentro da fração de pectina solúvel em álcali e menos na pectina solúvel em quelante, tornando o Al menos móvel. Portanto, o estudo fornece evidências de que o suprimento de B aumenta a imobilização de Al na pectina solúvel em álcalis, diminuindo, assim, muito provavelmente, a entrada de Al no simplasto aos arredores. Portanto, diante de tais pesquisas, tudo indica que o B interage com o Al e reflete em melhores condições para a planta em ambientes de cultivo ácidos ou que, uma planta bem nutrida com boro, tem um melhor desempenho em ambientes com a presença do Al.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Condições experimentais

O experimento foi desenvolvido na Unesp - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal–SP (latitude 21° 15' 22"S e longitude 48° 18' 58" WG, altitude de 575 m), dispondo de condições necessárias para o bom andamento do trabalho. As condições ambientais no interior da casa de vegetação foram registradas diariamente com auxílio de termoigrômetro (Figura 1).

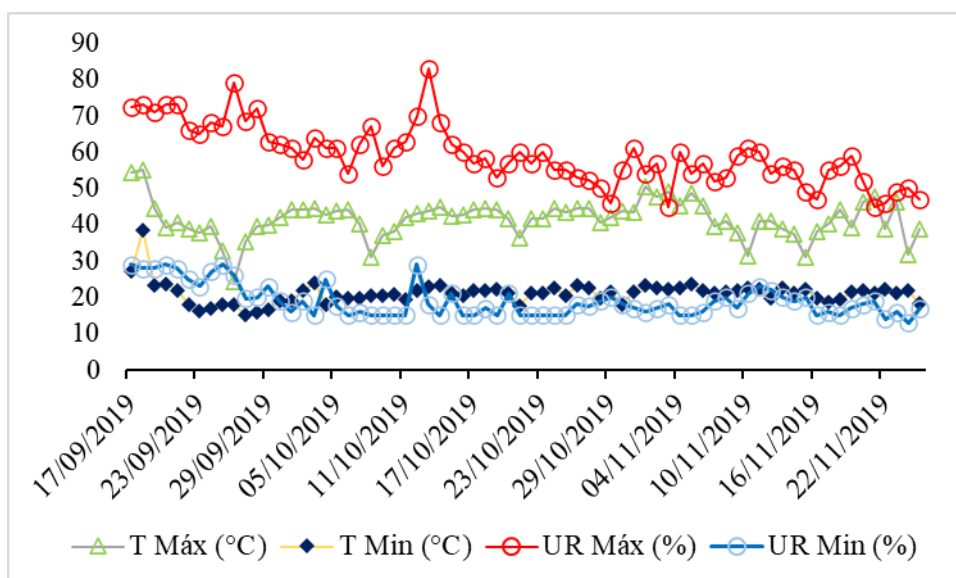


Figura 1. Temperatura e umidade máximas e mínimas da casa de vegetação durante a execução do experimento.

O trabalho foi conduzido adotando um sistema hidropônico alternativo desenvolvido a partir do sistema descrito por Dantas et al. (2001), com adaptações para cana-de-açúcar (Sousa et al. 2018). Nesse sistema a solução nutritiva foi colocada em recipientes que receberam potes de plástico nas dimensões 15x9x9 cm com capacidade de 1 litro e contendo 700 mL de areia lavada, onde foi transplantada uma muda. Cada recipiente alocou apenas um pote que teve o fundo perfurado, de modo a facilitar a absorção da solução pelas plantas por meio da força de capilaridade mediada pela transpiração. Nos recipientes foi mantida uma lâmina de 10 cm de solução nutritiva, cujo nível foi corrigido diariamente com adição de água destilada e completamente trocada a cada três dias. A eficiência desse sistema foi comprovada e

foi constatado que funciona tão bem quanto o sistema hidropônico tradicional (Sousa et al. 2018).



Figura 2. Recipientes utilizados para colocar a solução nutritiva e acomodar os potes com as mudas de cana-de-açúcar.

3.2 Aquisição e preparo das mudas de cana-de-açúcar

A obtenção das mudas foi feita a partir de minitoletes (3 cm) contendo uma gema cada um (Figura A), seguindo os métodos descritos em Sousa et al. (2018). Após cortados, os minitoletes foram imediatamente plantados em recipientes de plástico com capacidade de 500 mL, com furos na parte inferior, contendo areia lavada e peneirada e permaneceram por 15 dias sem qualquer restrição hídrica (Figura B).

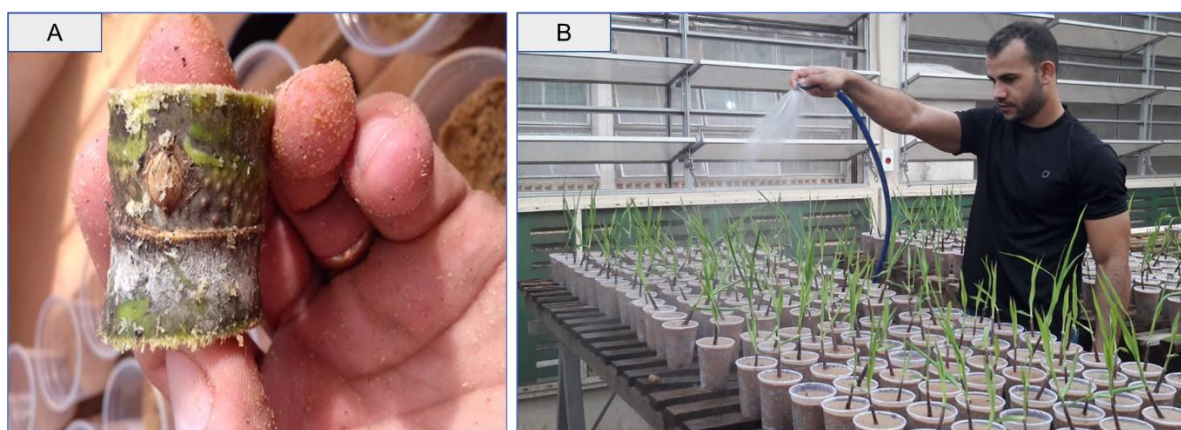


Figura 3. Minitoletes utilizados para obtenção das mudas (A) e mudas germinadas em copos de plásticos de 500 mL sendo irrigadas (B).

Após esse período, as mudas que foram utilizadas nos ensaios foram selecionadas quanto a homogeneidade e sanidade e transplantadas para potes de plásticos nos quais permaneceram até o final do experimento. O genótipo utilizado foi

a IACSP 955000 adquirido na fazenda experimental da IAC – Ribeirão Preto, SP. Essa cultivar foi escolhida por ser indicada para ambientes favoráveis, sendo, portanto, sensível a ambientes ácidos. Fato confirmado em estudo conduzido recentemente (Sousa et al., 2018).

3.3 Delineamento experimental e definição dos tratamentos

O ensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial $3 \times 4 \times 3$, sendo o primeiro fator correspondente a 3 concentrações de Boro (15, 30, 60 mmol L⁻¹ de ácido bórico (H₃BO₃)) consideradas baixa, adequada e suplementar, respectivamente, às exigências das plantas de cana-de-açúcar. O segundo fator corresponde aos níveis de Al que foram de 0, 20, 40 e 60 mg L⁻¹ utilizando, como fonte, o AlCl₃ e o terceiro fator corresponde à época em que foi feita a suplementação do B. Nesse caso o fornecimento das concentrações de B às plantas ocorreu antes, durante e depois da exposição ao Al. O ensaio teve 4 repetições, totalizando 144 unidades experimentais.

Com relação a suplementação das plantas antes da exposição ao Al, as concentrações de boro foram fornecidas por meio de solução nutritiva com pH $4,0 \pm 0,1$. As plantas ficaram expostas a essas concentrações por um período de 30 dias. Após esse período, metade das plantas foram utilizadas para as análises das variáveis biométricas e as demais foram transferidas para a mesma solução nutritiva, porém, sem as concentrações de boro e contendo as concentrações de Al (0, 20, 40 e 60 mg L⁻¹) em que permaneceram por mais 30 dias.

Quanto a suplementação com B depois da exposição ao Al, as plantas ficaram expostas inicialmente às concentrações de Al, porém, sem o fornecimento das concentrações de boro na solução.

As plantas permaneceram por um período também de 30 dias. Após esse período, metade das plantas foram utilizadas para avaliações e as demais foram suplementadas com as concentrações de boro por mais 30 dias.

Na suplementação com B durante a exposição ao Al, por sua vez, as concentrações de boro foram fornecidas simultaneamente com as concentrações de Al na solução nutritiva. No entanto, para manter a mesma idade das plantas que foram

pré tratadas com B e Al por 30 dias, nesse caso, antes da exposição aos tratamentos, as plantas permaneceram pelo mesmo período recebendo a solução nutritiva sem B e Al. Passado esse período de espera, só então as plantas foram submetidas aos tratamentos por 30 dias com a mesma idade das plantas pré tratadas com B e Al. Em todas as situações o pH da solução nutritiva foi regulado para $4,0 \pm 0,1$ usando solução de HCl ou NaOH.

Os níveis de B e Al, bem como o tempo de permanência nos tratamentos, foram definidos com base em informações na literatura e ensaios preliminares. Para saber se o valor de pH adotado ($4,0 \pm 0,1$) iria interferir no efeito das concentrações de B foi realizado um ensaio preliminar. Nesse caso, foram testadas 4 concentrações de B (7,5, 15, 30 e 60 mmol L⁻¹), as quais foram fornecidas às plantas com o pH da solução regulado a $4,0 \pm 0,1$ e $5,5 \pm 0,1$, sendo esse segundo valor considerado ideal para a maioria das culturas.

A solução nutritiva empregada foi a proposta por Furlani e Furlani (1998), contendo os seguintes nutrientes: 3,1 mL L⁻¹ Ca(NO₃)₂ 1,64 mol L⁻¹, 3,1 mL L⁻¹ NH₄NO₃ 0,42 mol L⁻¹, 2,2 mL L⁻¹ KCl 0,25 mol L⁻¹, 2,2 mL L⁻¹ K₂SO₄ 0,25 mol L⁻¹, 2,2 mL L⁻¹ KNO₃ 0,24 mol L⁻¹, 1,6 mL L⁻¹ Mg(NO₃)₂ 0,96 mol L⁻¹, 0,2 mL L⁻¹ KH₂PO₄ 0,13 mol L⁻¹, 0,6 mL L⁻¹ FeDDH 0,16 mol L⁻¹, 0,6 mL L⁻¹ MnCl₂ 0,08 mol L⁻¹, 0,6 mL L⁻¹ ZnSO₄ 0,005 mol L⁻¹, 0,6 mL L⁻¹ CuSO₄ 0,001 mol L⁻¹, e 0,6 mL L⁻¹ Na₃MoO₂ 0,001 mol L⁻¹.

3.4 Variáveis biométricas

Decorridos 30 dias após a passagem das plantas aos tratamentos, nas três épocas de suplementação, foram realizadas as seguintes avaliações não destrutivas: número de folhas vivas, altura de planta (do colo da planta até a ponta da folha +1), diâmetro e altura do colmo (do colo da planta até a lígula da folha +1), volume radicular e área foliar (Figura 4). A estimativa da área foliar foi determinada seguindo metodologia não destrutiva proposta por Hermann e Câmara (1999).

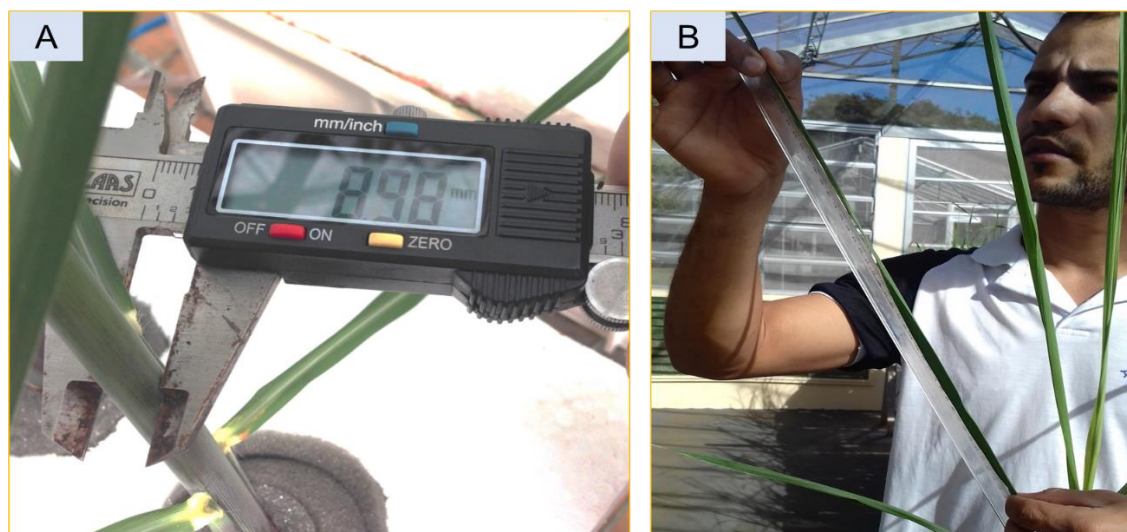


Figura 4. Determinação do diâmetro das mudas de cana-de-açúcar com auxílio de paquímetro digital (A) e medição do comprimento e largura da folha +1 para determinação da área foliar (B).

3.5 Rendimento quântico do FSII (Fv/Fm)

A eficiência do fotossistema foi estimada pela medição da fluorescência da clorofila utilizando um fluorímetro de clorofila (Opti-sciences - Os30P). Inicialmente, as plantas foram deixadas a adaptar-se no escuro durante, no mínimo, 30 min antes da excitação do pulso de luz vermelha de 1 s. Os seguintes parâmetros foram medidos: F0 (fluorescência mínima para excitação da clorofila) e Fm (fluorescência máxima para excitação da clorofila). Estes dois parâmetros foram usados para calcular Fv (variação na fluorescência calculada a partir de F0 e Fm), Fv/Fm (razão de fluorescência variável e fluorescência máxima), e Fv/F0 (razão de fluorescência variável e fluorescência mínima). As medidas foram realizadas entre 7 e 8 horas, usando a primeira folha completamente desenvolvida de cada planta seguindo os métodos propostos por Lichtenthaler et al. (2005).

3.6 Índice de extravasamento de eletrólitos celulares

Na avaliação dos danos à integridade das membranas celulares, foi utilizado o método da determinação do índice de extravasamento de eletrólitos, proposto por Dionisio-Sese e Tobita (1998), para essa análise foram coletados seis discos foliares (129 mm² cada) da primeira folha completamente desenvolvida e emergidos em béquer contendo 20 mL de água deionizada, à temperatura ambiente, por 2 horas.

Após este período foi realizada uma leitura de condutividade elétrica da solução (EC1) com auxílio de um condutivímetro de bancada (Medidor digital TDS-3). Em seguida, as amostras foram submetidas a aquecimento em autoclave a 121°C, por 20 min, e após esfriamento foi realizado uma nova leitura de condutividade elétrica final (EC2) (Figura 5). O extravasamento de eletrólitos foi determinado considerando a seguinte fórmula: $EC1/EC2 \times 100$.

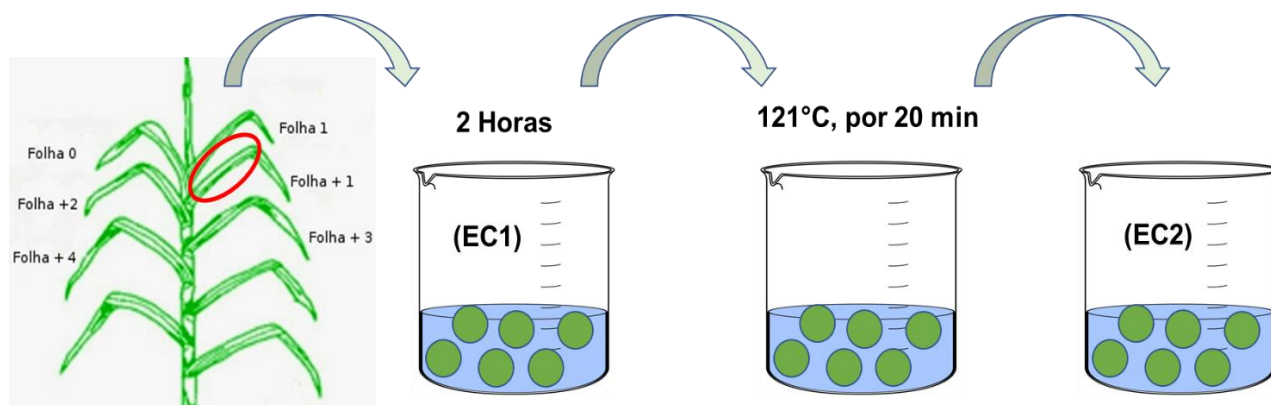


Figura 5. Esquema da coleta de discos e determinação do índice de extravasamento de eletrólitos, proposto por Dionisio-Sese e Tobita (1998).

3.7 Teste de coloração de raízes com hematoxilina

Essa análise baseou-se na complexação da hematoxilina com o Al permitindo a visualização da intensidade das concentrações absorvidas pelas raízes. Para distinção da sensibilidade em classes de acúmulo de Al nos ápices radiculares utilizou-se a escala de avaliação adaptada por Oliveira (2012). Para realização deste teste foi diluído 1g de hematoxilina, 0,1g de $NaIO_3$ (iodato de sódio) e uma gota de NaOH 0,1mol L⁻¹ em um litro de água destilada. As raízes coletadas foram lavadas em água destilada, submetidas em solução de hematoxilina por 15 minutos e novamente lavadas em água destilada para posterior avaliação: registros em câmera digital e análise mediada pelas classes de acúmulo de Al adotando a escala de Braccini et al. (2000) e adaptada para cana-de-açúcar por Oliveira (2012) (Figura 6). Para determinar essa variável foi realizado um ensaio paralelo adotando os mesmos tratamentos citados anteriormente, porém com o período de exposição menor. O tempo de exposição aos tratamentos com o micronutriente B e ao Al ocorreu por

apenas 3 dias, ou seja, esse período foi adotado nas três situações que o boro foi fornecido, isto é, antes, durante e após a exposição ao Al.

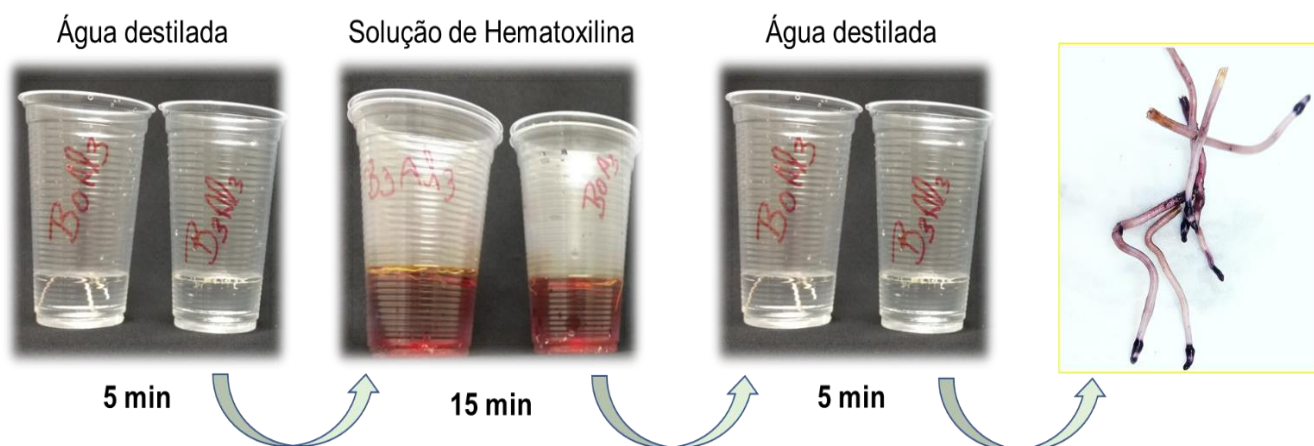


Figura 6. Sequência da realização do teste de coloração das raízes com hematoxilina permitindo a visualização da intensidade das concentrações de Al absorvidas pelas raízes.

3.8 Açúcar total e sacarose

Para as análises de sacarose e açúcares totais, o material foi extraído de acordo com o método proposto por Bielecki e Turner (1966). O extrato foi preparado macerando 1g de folhas frescas em almofariz de porcelana, em seguida o material foi transferido para tubo Falcon de 15 mL e adicionou-se 10 mL da solução MCW (60% metanol, 25% clorofórmio e 15% água). O material foi homogeneizado em vórtex e, posteriormente centrifugado em centrífuga refrigerada por 10 minutos a 10.000 rpm. Adicionou-se a outro tubo 4 mL do sobrenadante do extrato MCW, 1 mL de clorofórmio e 1,5 mL de água. Após a separação das fases, realizou-se a quantificação de sacarose, açúcares totais, aminoácidos, nitrato e ureídeos totais (alantoína+ácido alantônico) na fase solúvel em água.

A quantificação de açúcares totais foi realizada de acordo com Du Bois et al., (1956). Em tubo de ensaio foi adicionado 20 µL do extrato MCW, 500 µL de fenol (5%) e 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Homogeneizou-se a mistura em vórtex e após o resfriamento à temperatura ambiente, fez-se a leitura em espectrofotômetro com a absorbância a 490 nm. Os resultados são expressos em mg g⁻¹ de massa fresca.

A quantificação de sacarose foi realizada conforme Van Handel (1967). Em tubo de ensaio foi adicionado 50 μL do extrato MCW, 500 μL de KOH (30%) e 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. A mistura foi homogeneizada em vórtex, e em seguida adicionada em forno a 100 °C por 10 minutos. A mistura foi resfriada em temperatura ambiente e em seguida fez-se a leitura em espectrofotômetro na absorbância de 490 nm, com resultados expressos em mg g^{-1} de peso fresco. A quantificação de açúcar e sacarose foram realizadas usando uma curva de sacarose.

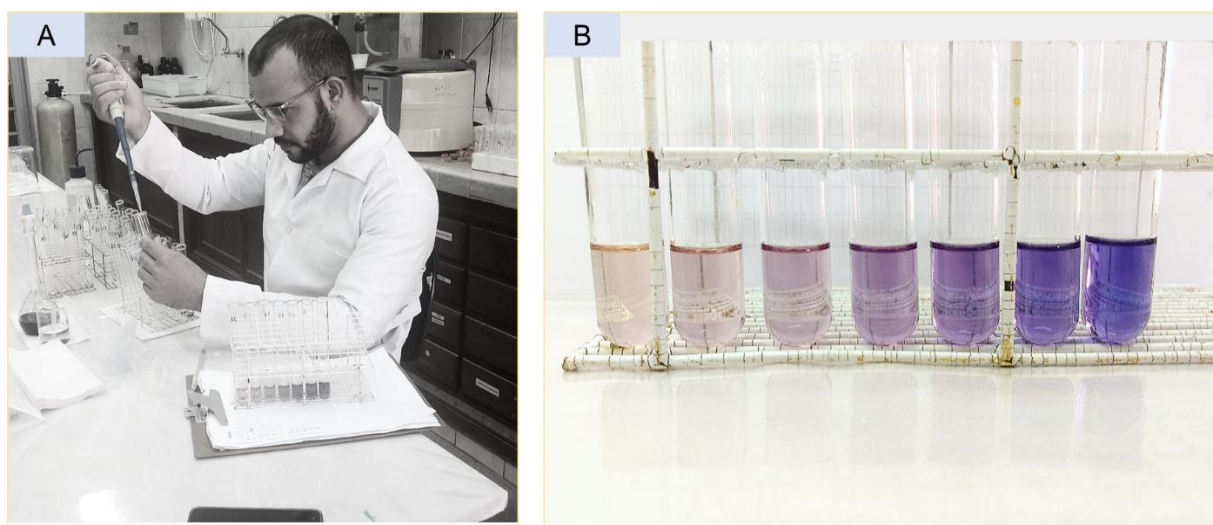


Figura 7. Quantificação de açúcares totais sendo realizada de acordo com Du Bois et al., (1956) (A) e curva de sacarose para quantificação de açúcares e sacarose (B).

3.9 Nitrato

Para a determinação de nitrato em folhas de cana-de-açúcar, adotou-se o método descrito por Cataldo et al. (1975). Em tubo de ensaio, foi adicionado uma alíquota de 100 μL da fase solúvel em água do extrato MCW e 0,4 mL de ácido salicílico 5% em ácido sulfúrico (m/v). Depois de 20 min em temperatura ambiente, acrescentou-se 9,5 mL de NaOH (2N). Após resfriamento em temperatura ambiente, fez-se a determinação de nitrato em espectrofotômetro no comprimento de onda de 410 nm. As concentrações foram mensuradas por curva padrão da solução de nitrato de sódio, com resultados expressos por $\mu\text{mol g}^{-1}$ PF.

3.10 Aminoácidos livres totais

A quantificação de aminoácidos livres, seguiu-se o método proposto por Moore (1968), usando a curva padrão de Leucina a 0,2 mM em solução tampão de acetato de lítio (pH 5,0), com absorvância de 570 nm.

3.11 Teor de Boro, proteína total e nitrogênio

A determinação dos teores de B foi feita por colorimetria com azometina-H segundo os métodos propostos por Tedesco et al. (1995). As soluções utilizadas foram H₂SO₄ 0,18; tampão EDTA pH 8,1 e Azometina-H. Para realizar a curva de calibração foram utilizadas concentrações padrões de B utilizando-se ácido bórico (50 mg de B L⁻¹). A absorvância foi lida a 435 nm.

Quanto à concentração de proteína bruta e teor de nitrogênio, foram determinados seguindo a metodologia proposta por Kjeldahl (1883). Esse método se baseia na transformação do nitrogênio presente na amostra em sulfato de amônio por meio da digestão com ácido sulfúrico, e em seguida a destilação com liberação da amônia, que é fixada em solução ácida e titulada (MAPA, 2013).

3.12 Análise estatística dos resultados

Para a análise dos resultados foi empregado o tratamento estatístico para determinar a qualidade e homogeneidade dos dados, a fim de determinar a necessidade ou não do uso de transformações prévias à análise estatística. Nos casos em que houve transformação dos dados, foi feita com a transformação Box-Cox estimada e aplicada como proposto por Hawkins e Weisberg (2017). No entanto, os valores das médias foram mantidos na escala original. Com os dados devidamente prontos, foram submetidos à análise de variância pelo teste F e comparação das médias pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade. As análises foram feitas usando o programa AGROESTAT (Barbosa e Maldonado Junior, 2015).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Resultados biométricos das plantas

No ensaio preliminar em que foi verificado o efeito do pH nas concentrações de B na solução nutritiva, foi possível verificar efeito significativo ($P < 0,05$) somente na massa seca da raiz (MSR). A maior massa foi obtida com a maior concentração de B (B4) em pH 4,0 (Tabela 1). Nas demais variáveis biométricas analisadas não se observou efeito significativo entre os valores de pH testados.

Tabela 1. Efeito do fornecimento das concentrações de 7,5, 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2, B3 e B4, respectivamente), sob dois valores de pH da solução nutritiva, no diâmetro do colmo (DC), altura do colmo (AC), altura da planta (H. PLTA), número de folhas vivas (NFV), área foliar (AF), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) de mudas de cana-de-açúcar, por 30 dias. Letras maiúsculas e minúsculas iguais demonstram não haver diferença em relação às concentrações de pH e B, respectivamente, pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

Variável	pH da solução	Concentrações de Boro na solução nutritiva			
		B1	B2	B3	B4
DC (mm)	4,0 ± 0,1	9,3130 Ab	9,5825 Ab	10,6925 Aa	10,215 Aa
	5,5 ± 0,1	9,3900 Ab	10,260 Aa	9,8600 Ab	10,658 Aa
AC (cm)	4,0 ± 0,1	9,050 Ab	10,500 Aa	11,925 Aa	11,600 Aa
	5,5 ± 0,1	9,210 Ab	10,725 Aa	12,725 Aa	11,733 Aa
A. PTLA (cm)	4,0 ± 0,1	54,065 Ab	65,175 Ab	69,825 Aa	73,275 Aa
	5,5 ± 0,1	62,675 Ab	63,700 Ab	70,500 Aa	72,550 Aa
NFV	4,0 ± 0,1	5,5000 Aa	5,6000 Aa	5,6500 Aa	5,7650 Aa
	5,5 ± 0,1	5,7500 Aa	5,7500 Aa	5,8400 Aa	5,9500 Aa
AF (cm ²)	4,0 ± 0,1	155,90 Ab	157,51 Ab	165,41 Aa	175,12 Aa
	5,5 ± 0,1	158,86 Ab	162,79 Ab	164,28 Ab	177,51 Aa
MSPA (g)	4,0 ± 0,1	2,2900 Ab	4,6425 Aa	5,9400 Aa	5,3250 Aa
	5,5 ± 0,1	3,4450 Ac	5,7675 Aa	5,3625 Aa	6,5575 Aa
MSR (g)	4,0 ± 0,1	2,0275 Ab	2,4000 Ab	3,5775 Ab	4,1550 Aa
	5,5 ± 0,1	2,2225 Ab	2,3975 Ab	3,6050 Aa	3,6150 Ba
CV (%)	-	12,51	8,42	10,32	9,45

Após 30 dias de suplementação com as concentrações de 0,015, 0,03 e 0,06 mol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3, respectivamente), foi possível verificar que houve efeito significativo ($P < 0,05$) para altura do colmo, altura da planta, área foliar, volume radicular, massa seca da raiz, massa fresca e seca da parte aérea (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito do fornecimento das concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) e de Al (0, 20, 40 e 60 mg L⁻¹) no diâmetro do colmo (DC), altura do colmo (AC), altura da planta (H.PLTA), número de folhas vivas (NFV), número de folhas mortas (NFM), área foliar (AF), volume radicular (VR), massa seca da raiz (MSR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca do tolete (MST) em mudas de cana-de-açúcar após 30 dias. Médias com letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

Conc. Boro	Variáveis										
	DC	AC	H.PLTA	NFV	NFM	AF	VR	MSR	MFPA	MSPA	MST
	cm	cm				cm	ml		g Planta ⁻¹		
B1	9,05 a	8,5 b	49,62 b	5,00 a	1,50 a	155,87 b	14,13 b	2,19 b	9,76 b	2,44 b	3,75 a
B2	9,46 a	11,57 a	63,00 a	5,50 a	0,50 a	177,77 a	18,55 a	4,05 a	14,13 a	5,53 a	3,87 a
B3	10,55 a	10,22 a	60,37 a	5,75 a	1,00 a	175,62 a	19,80 a	4,94 a	12,33 a	5,12 a	4,52 a
Média	9,68	10,09	57,66	5,41	1	169,75	17,49	3,73	12,07	4,36	4,04
DMS (5%)	1,58	1,52	5,46	1,02	0,85	19,32	4,21	1,73	2,23	2,24	1,27
CV (%)	10,93	12,21	16,32	8,12	9,73	7,29	13,52	10,75	13,25	12,43	9,53
Conc. Al (mg L ⁻¹)	DC	AC	H.PLTA	NFV	NFM	AF	VR	MSR	MFPA	MSPA	MST
0	9,84 a	11,12 a	60,87 a	5,25 a	1,25 a	206,76 a	18,25 a	4,26 a	16,66 a	4,14 a	4,75 a
20	8,31 ab	8,52 b	54,24 b	4,50 a	1,25 a	124,28 b	13,25 b	2,01 b	9,94 b	2,67 b	4,16 a
40	7,91 b	8,17 b	56,25 b	4,25 a	1,50 a	142,95 ab	12,00 b	1,89 b	9,44 b	2,17 b	5,78 a
60	7,78 b	8,05 b	48,90 b	4,00 a	1,50 a	97,80 b	8,25 c	1,00 b	9,35 b	2,03 b	3,96 b
Média	8,46	8,96	55,06	4,5	1,37	142,95	12,94	2,29	11,34	2,75	4,66
DMS (5%)	1,94	2,16	4,51	1,65	0,87	65,31	3,65	1,87	3,48	1,25	2,14
CV (%)	7,12	15,62	8,28	8,35	6,52	24,27	12,52	10,24	13,79	15,32	20,81

As plantas que foram suplementadas somente com Al durante o mesmo período, tiveram a maioria de suas variáveis biométricas afetadas pelo efeito tóxico do Al (Tabela 2). Entre as variáveis analisadas, o volume radicular (VR) e a massa seca da raiz (MSR) foram as mais afetadas, apresentando uma diminuição do crescimento em até 45%, em relação às plantas que não receberam Al. Com o número de folhas vivas e mortas (NFV e NFM) e massa seca do tolete, todas as demais variáveis da parte aérea foram afetadas ($P < 0,05$) à medida que foram aumentadas as concentrações de Al na solução.

Assim como o efeito do Al, a deficiência ou baixa concentração de B reduz diretamente o crescimento das raízes, limitando o alongamento de suas células (Zhou et al. 2014). Além disso, a baixa disponibilidade de B pode suprimir o crescimento na parte aérea, como altura da planta e área foliar (Wojcik et al. 2008; Wang et al. 2015), o que está de acordo com os dados da tabela 2. Na tabela 1, ainda que não observou-se efeito significativo ($P>0,05$), é possível observar que os menores valores na maioria das variáveis foram observados nas menores concentrações de B, com tendência de melhoria com o aumento dessas. Apesar do intervalo de concentração de B, desde a sua essencialidade até a toxicidade, ser bastante estreito (Landi et al., 2019) não foi observado sintomas de toxidez nas plantas com o fornecimento de até 60 mmol L^{-1} de B.

Quanto às plantas que foram suplementadas com B durante a exposição do Al, no final dos 30 dias em que ficaram sem receber B e nem Al, não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$) nas variáveis biométricas analisadas. Embora com médias um pouco menores em relação às plantas que foram pré suplementadas com B pelo mesmo período (Tabela 2), mantiveram a mesma homogeneidade que tinham quando foram selecionadas para o ensaio (Tabela 3).

Tabela 3. Algumas das variáveis biométricas das plantas de cana-de-açúcar que permaneceram por 30 dias na solução nutritiva sem receber boro B e Al. Médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

Conc. Boro	Concentrações de Al (mg L ⁻¹)				Média
	-	-	-	-	
Diâmetro do colmo (mm)					
-	8,19	7,65	8,49	8,23	8,14 A
-	7,39	8,55	8,05	7,51	7,89 A
-	8,80	8,29	7,52	8,82	8,20 A
Média	8,12 A	8,16 A	8,02 A	7,87 A	8,06
DMS (5%)	1,402				
CV (5%)	10,97				
Altura da planta (cm)					
-	52,23	60,12	51,34	53,96	54,41 A
-	57,33	58,31	50,94	59,65	56,55 A
-	55,32	61,23	57,73	51,54	56,45 A
Média	54,96 A	59,88 A	53,33 A	55,05 A	55,81
DMS (5%)	4,87				
CV (5%)	18				
Massa seca da raiz (g planta ⁻¹)					
-	2,31	3,22	2,05	2,19	2,44 A
-	2,67	2,42	3,51	2,25	2,71 A
-	3,01	3,52	3,16	2,14	2,95 A
Média	2,66 A	3,05 A	2,90 A	2,19 A	2,70
DMS (5%)	1,54				
CV (5%)	12				
Massa seca da parte aérea (g planta ⁻¹)					
-	3,24	2,87	3,98	2,54	3,15 A
-	4,12	3,45	4,23	3,25	3,79 A
-	2,85	3,15	4,01	4,25	3,56 A
Média	3,40 A	3,15 A	4,07 A	3,34 A	3,49
DMS (5%)	1,98				
CV (5%)	13,52				

Ao final dos últimos 30 dias após a exposição aos tratamentos, foi possível verificar efeito significativo ($P < 0,05$) das concentrações de B e de Al nas variáveis biométricas da parte aérea das plantas (Figura 8). Todas as variáveis foram afetadas com o fornecimento do Al e o efeito se agravou à medida que houve aumento nas concentrações. No entanto, com exceção da altura da planta (Figura 8C), nota-se que em todas as concentrações de Al houve um efeito de atenuação da toxicidade quando se aumentou o fornecimento de B na solução, principalmente nas concentrações de 20 e 40 mg L⁻¹ de Al.

A aplicação da maior concentração de B (B3) promoveu um aumento de quase 30 % no diâmetro do colmo (Figura 8 A) em relação à menor concentração (B1) nas plantas submetidas a 40 mg L⁻¹ Al, enquanto que na área foliar (Figura 8 D) esse valor chegou a 48% quando a concentração de B foi aumentada na solução.

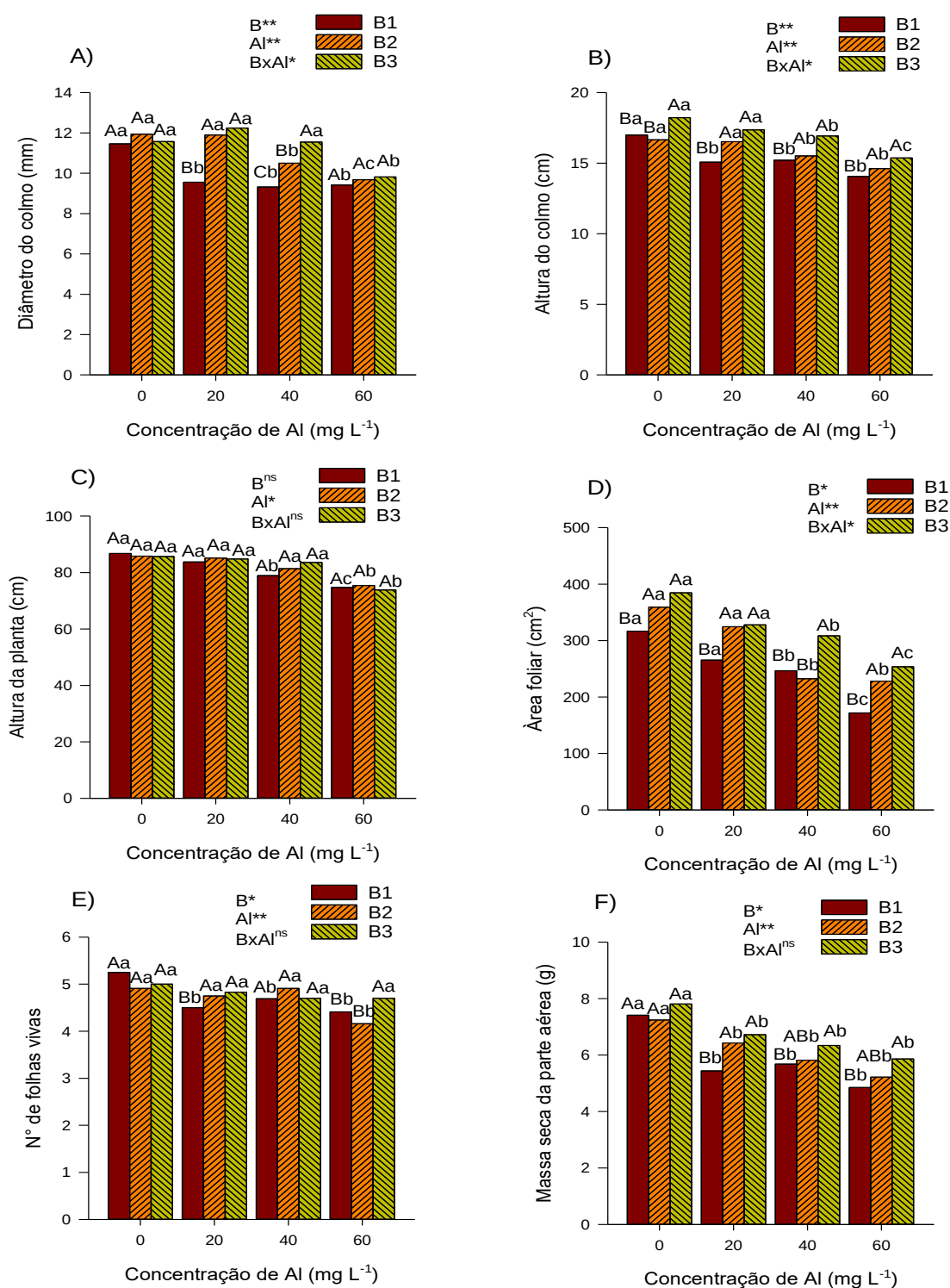


Figura 8. Efeito do fornecimento das concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) nas variáveis biométricas de mudas de cana-de-açúcar submetidas a diferentes concentrações de Al por 30 dias. ** e * significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente. ^{ns}: não significativo pelo teste F. Letras maiúsculas e minúsculas iguais demonstram não haver diferença em relação às concentrações de B e Al, respectivamente, pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

De todas as variáveis analisadas, o sistema radicular foi o mais afetado ($P < 0,05$) pelo estresse provocado pelo Al (Figura 9 e 10 A e B), seguido do número de perfilhos vivos (Figura 10 C). O volume radicular e, conseqüentemente, a massa seca da raiz apresentaram uma limitação de crescimento em até 50% quando comparado ao tratamento que não recebeu Al. A massa seca do tolete, não foi afetada ($P > 0,05$) pela aplicação das concentrações de B, nem pelas concentrações de Al (Figura 10 D).

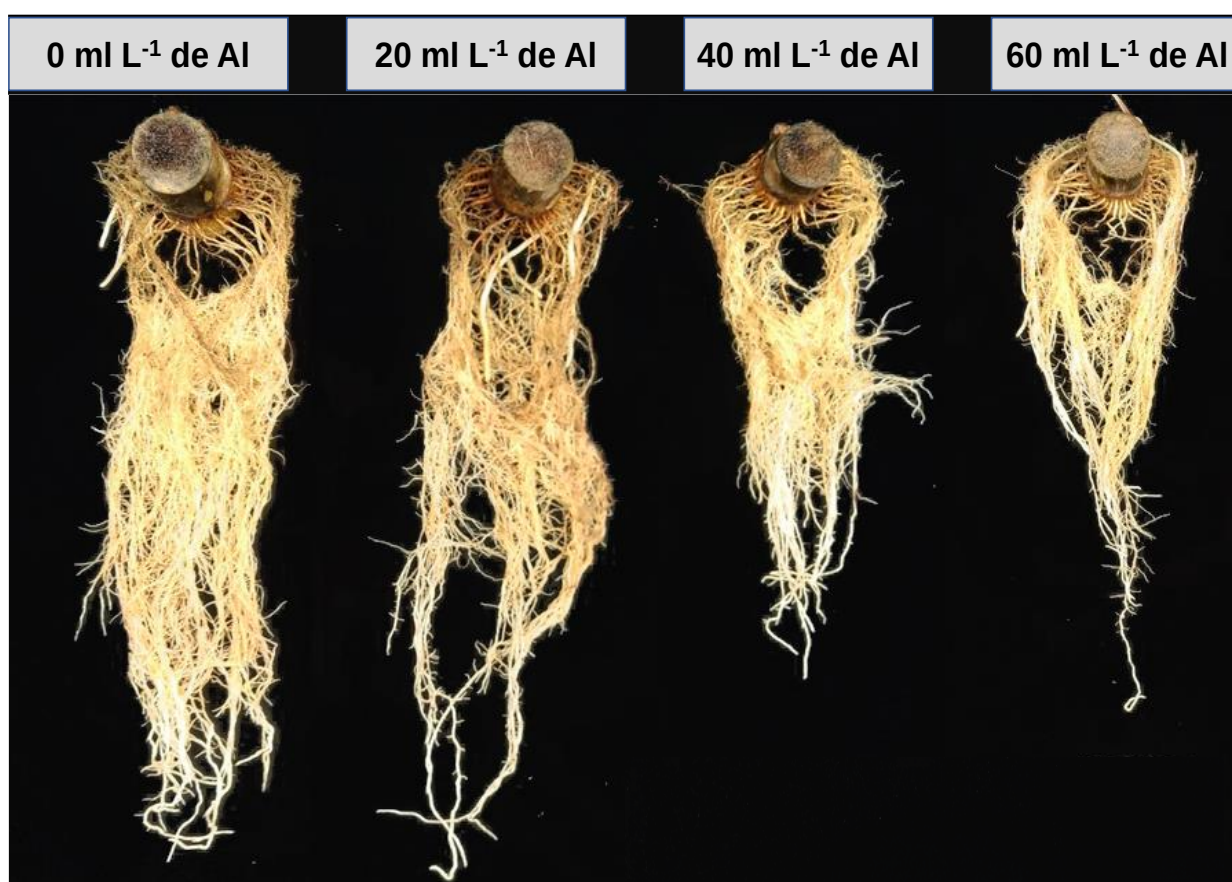


Figura 9. Efeito do fornecimento de diferentes concentrações de alumínio (Al) sobre o sistema radicular de mudas de cana-de-açúcar durante 30 dias sem o fornecimento de Boro.

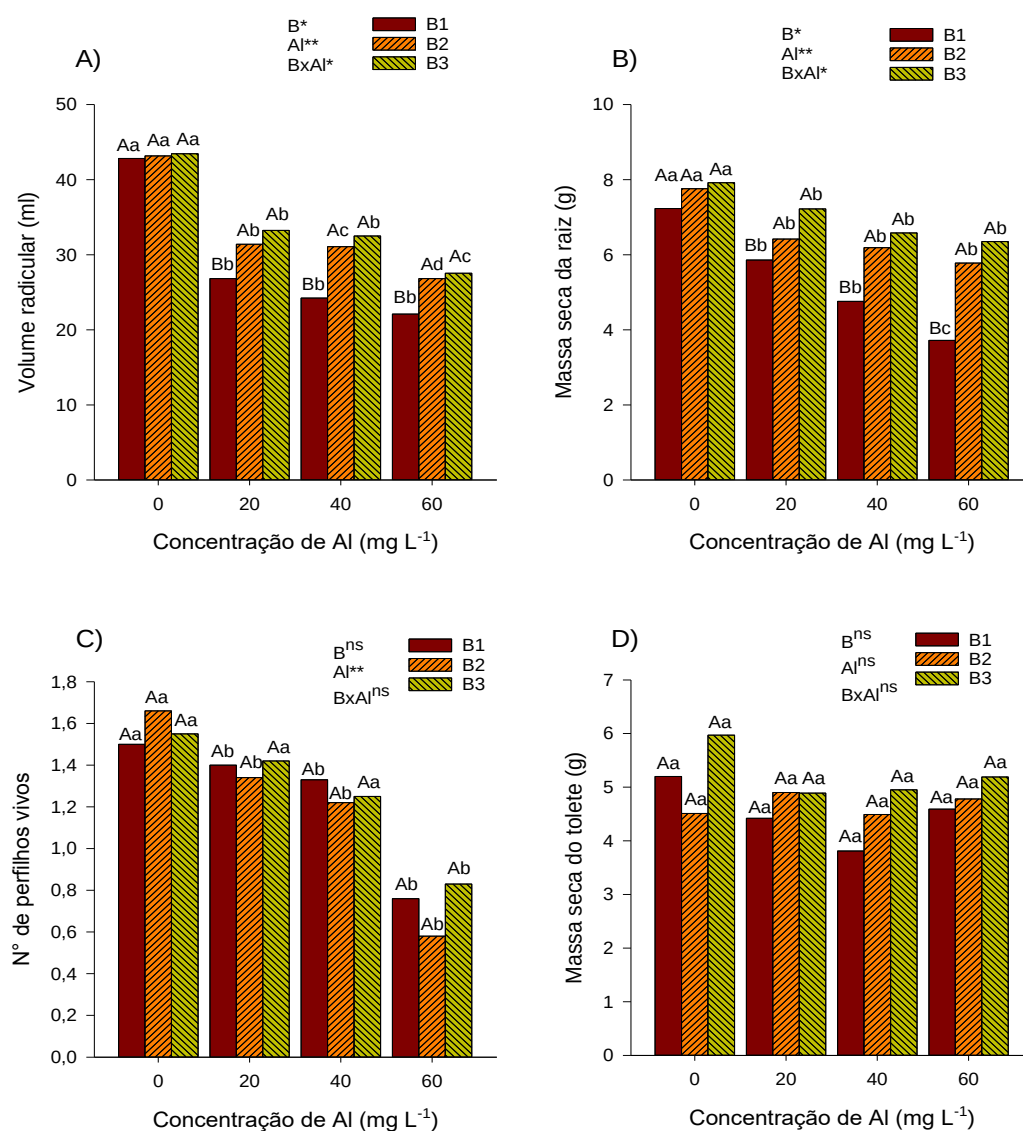


Figura 10. Efeito do fornecimento das concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) nas variáveis da raiz (A e B), números de perfilhos (C) e massa seca do tolete (D) submetidas a diferentes concentrações de Al por 30 dias. ** e * significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente. ^{ns}: não significativo pelo teste F. Letras maiúsculas e minúsculas iguais demonstram não haver diferença em relação às concentrações de B e Al, respectivamente, pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

Apesar do Al ter prejudicado o sistema radicular das mudas de cana, notou-se que houve uma melhoria significativa ($P < 0,05$) no seu crescimento quando se aumentou as concentrações de B na solução nutritiva. As concentrações de 30 e 60 mol L⁻¹ B (B2 e B3) foram as que permitiram melhor produção de massa seca da raiz,

enquanto as plantas que receberam baixa concentração de B (B1) foram as mais afetadas pelas concentrações de Al (Figura 11). Assim como na massa seca do tolete, não foi verificado efeito atenuador ($P>0,05$) para o número de perfilhos vivos (Figura 10 C) com a suplementação de B.

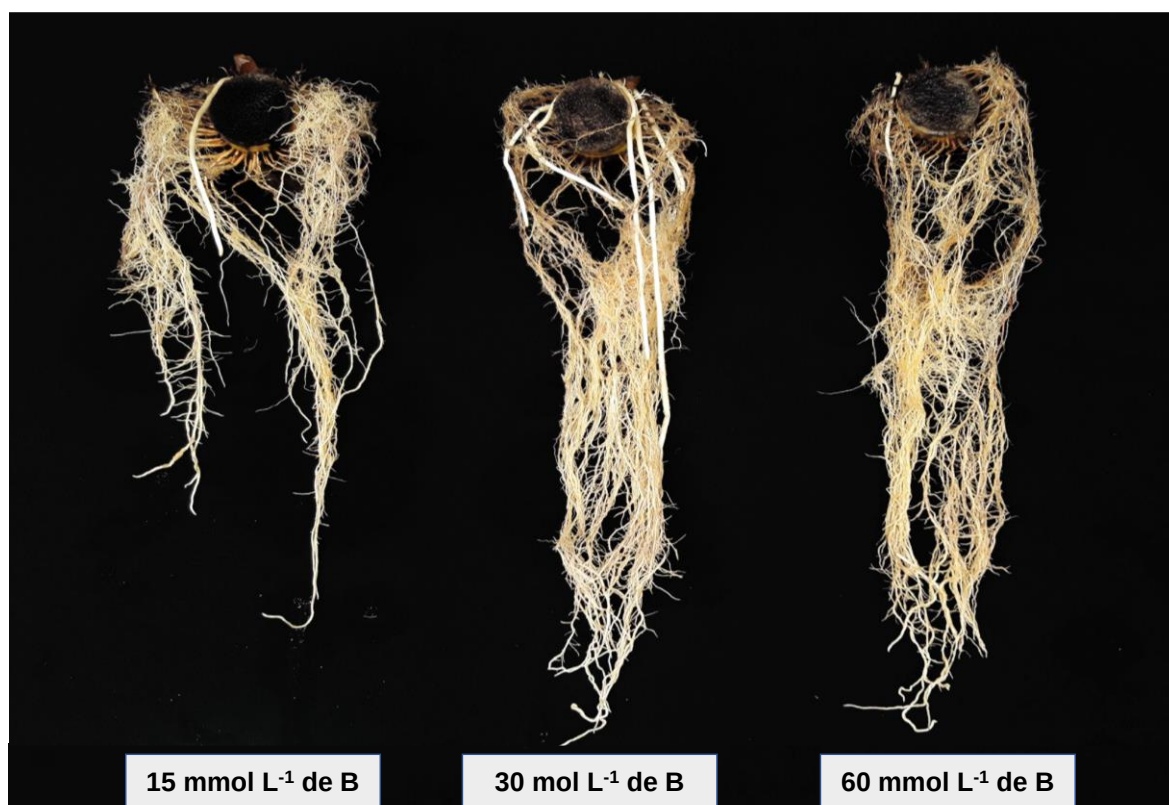


Figura 11. Efeito do fornecimento das concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) sobre o sistema radicular de mudas-de-açúcar submetidas ao estresse provocado pelo Al por 30 dias.

Efeito positivo do suprimento de B na tolerância ao Al foi refletido em quase todas as variáveis de crescimento analisadas, incluindo as da parte aérea como área foliar, diâmetro e altura do colmo (Figura 8). Esses resultados concordam com estudos com diferentes plantas inclusive não-gramíneas (Yu et al. 2009; Jiang et al. 2009; Barbosa et al. 2017; Riaz et al. 2018a; Yan et al. 2018; Yan et al. 2019). Esses estudos indicam que o suprimento de B suficiente e/ou suplementar às exigências das plantas pode atenuar a toxicidade do Al, aumentando o alongamento das raízes e sua capacidade de absorver água e nutrientes. Por consequência, havendo melhoria no crescimento da parte aérea. Para esses autores isso se deve entre outros fatores ao menor acúmulo de Al nessa parte da planta.

Sabe-se também que plantas deficientes em B podem apresentar as estruturas da parede celular fortemente alteradas tanto em nível macroscópico quanto no microscópico (Loomis e Durst 1992 ; Shorrocks, 1997) resultando numa formação anormal, podendo tornar a planta ainda mais vulnerável às adversidades como a toxidez do Al. Neste estudo, quando fornecido nível suficiente e suplementar de B (30 e 60 mmol L⁻¹, respectivamente) os efeitos da toxidez do Al foram menos agravantes (Figuras 8, 10). Enquanto que, sob baixo nível de B (15 mmol L⁻¹) o Al induziu maiores danos, principalmente no sistema radicular (Figuras 10 A e B), com consequência nas demais variáveis, incluindo as da parte aérea.

No que se refere às épocas em que as plantas foram suplementadas com B, observou-se de forma geral que plantas que receberam B antes e durante a exposição ao Al tiveram o efeito da toxidez atenuado ($P < 0,05$) (Figura 12 e 13). Embora a área foliar não tenha apresentado alterações significativas ($P > 0,05$), plantas suplementadas antes e durante a exposição ao Al apresentam uma ligeira tendência de melhorias em relação a suplementação pós-estresse (Figura 13D).

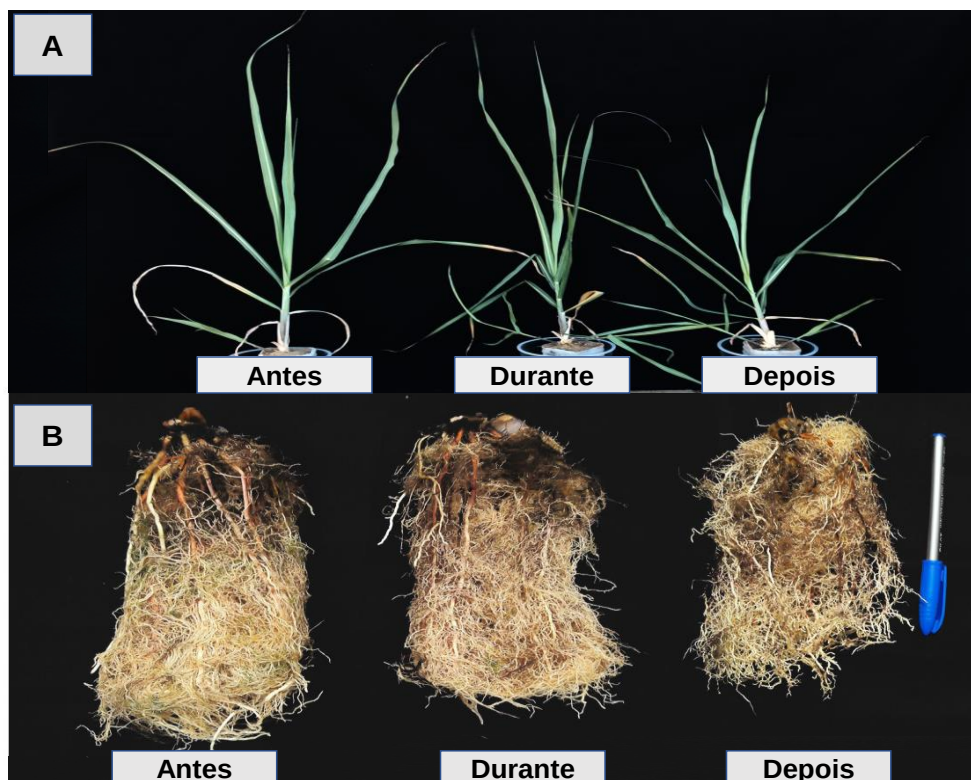


Figura 12. Efeito da suplementação de Boro em mudas de cana-de-açúcar antes, durante e depois da exposição ao efeito tóxico do Al, na altura e diâmetro do colmo (A) e sistema radicular (B).

É interessante notar que não foi observado melhoria significativa na altura das plantas com o aumento das concentrações de B (Figura 8 C). No entanto, quando as plantas receberam B antes do estresse provocado pelo Al, apresentaram maior crescimento independentemente da concentração de Al aplicada (Figura 13 C). Por sua vez, as plantas submetidas a 60 mg L^{-1} Al na solução não apresentaram melhorias no diâmetro do colmo com o aumento das concentrações de B (Figura 8 A). Entretanto, plantas nutridas antecipadamente com esse micronutriente apresentaram maior diâmetro do colmo (Figura 13 A).

A melhoria nas variáveis de crescimento da cana com o fornecimento de B, nessa condição de estresse, pode estar fortemente relacionado a sua função de ser precursor na formação de parede celular primária, o que dá origem a uma parede celular estável e complexa (Riaz et al., 2018a). Atuando na parede celular primária, o B (Matoh e Kobayashi, 1998; Yu et al., 2009; Li et al., 2017) reticula o polissacarídeo péptico rhamnogalacturonan II (RG-II), formando ésteres de borato (B-RG-II) (Kobayashi et al., 1996).

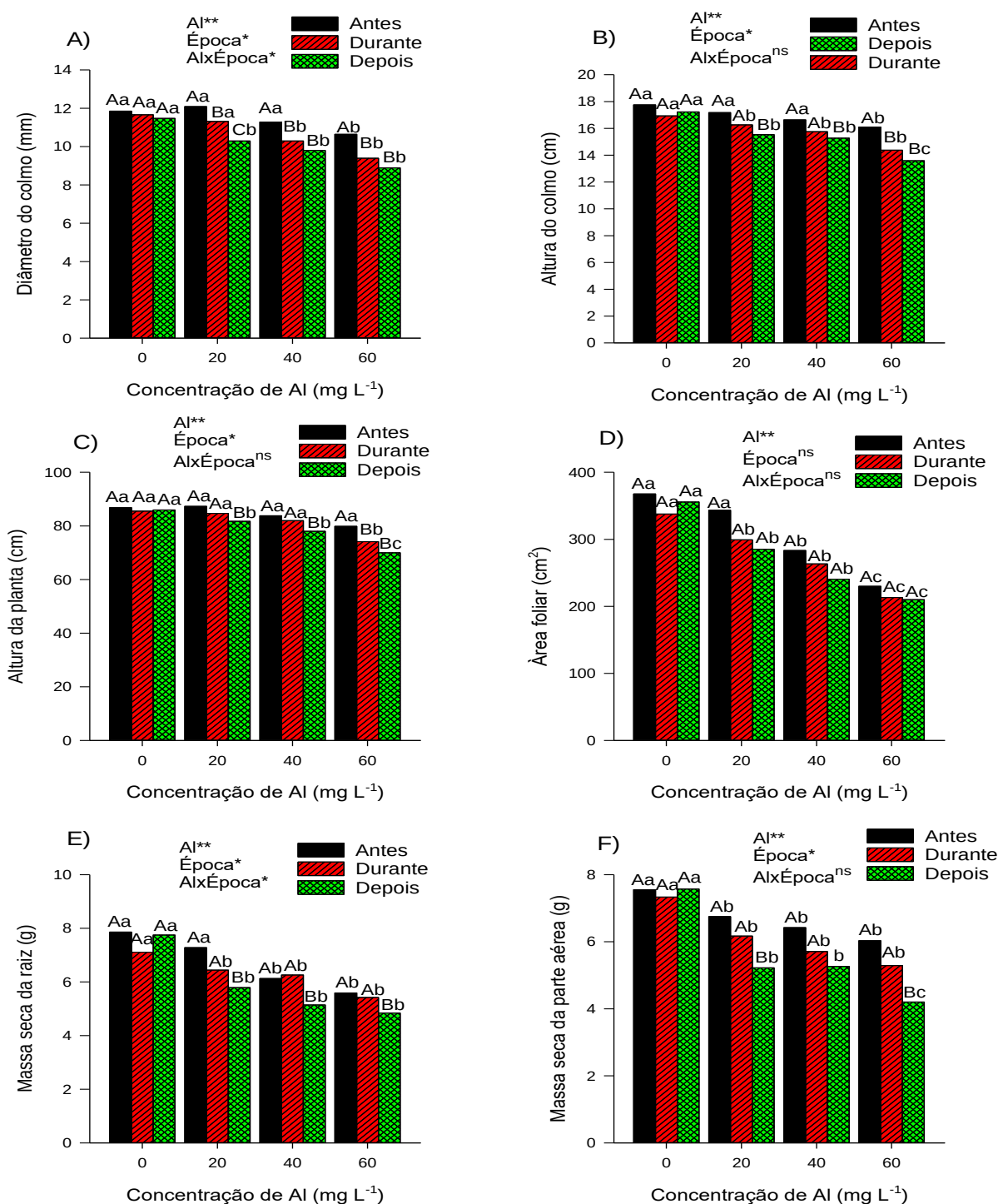


Figura 13. Efeito da suplementação de Boro antes, durante e depois da exposição ao efeito tóxico do Al, na altura e diâmetro do colmo (A e B), altura da planta (C), área foliar (D), massa seca da raiz e da parte aérea (E e F) de plantas de cana-de-açúcar, por 30 dias. ** e * significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente. ^{ns}: não significativo pelo teste F. Letras maiúsculas e minúsculas iguais demonstram não haver diferença em relação às concentrações de B e Al, respectivamente, pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

Esse complexo B-RG-II é essencial para a estrutura e função da parede celular (Kobayashi et al., 1996; Goldbach et al., 2007), pois afeta significativamente a porosidade desta (Fleischer et al., 1999) e o seu conteúdo de cargas (Stass et al., 2007). Portanto, plantas que são supridas de B garantem maior estabilidade na integridade da parede celular.

Tal estabilidade induzida pelo B, parece ser a responsável pela melhoria das suas propriedades físicas e bioquímicas (Fleischer et al., 1998), que restringe o número de sítios de ligação onde o Al poderia se fixar. Consequentemente, isso resultaria em menor acúmulo de Al nas raízes. Essa é uma das justificativas para o efeito do B na mitigação da toxicidade do Al (Zhu et al., 2019).

Outros possíveis mecanismos foram propostos para explicar a atenuação do efeito do Al induzido pelo B, podendo ser citado a compartimentação subcelular (Corrales et al., 2008), o aumento da síntese de glutatona induzida por B (Ruiz et al., 2006), diminuição na pectina não-metilada nas paredes das células das pontas das raízes, reduzindo a ligação do Al aos compartimentos apoplásticos (Stass et al., 2005), melhorando inclusive a transferência de Al do citoplasma para vacúolos, regulando transportadores relacionados ao Al, como observado na raiz do arroz (Zhu et al., 2019).

4.2 Índice de extravasamento de eletrólitos celulares e Rendimento quântico do FSII (Fv/Fm)

O extravasamento de eletrólitos, assim como o rendimento quântico do FSII (Fv/Fm) é frequentemente usado para estimar o dano nas membranas celulares e para avaliar a tolerância da planta ao Al (Surapu et al. 2014; Guo et al. 2017). Danos em membranas a nível de células do tecido foliar podem ser um dos primeiros sinais ao estresse na parte aérea, e existem relatos na literatura de que vários fatores parecem agir no sentido de mitigar tais danos e a nutrição suplementar da planta tem sido um deles (Bajji et al. 2001; Jiang et al. 2009).

Se por um lado o índice de extravasamento de eletrólitos nas folhas das plantas foi significativamente aumentado com o aumento das concentrações de Al (Figura 14 A e B), por outro lado o aumento das concentrações de B na solução não alterou ($P>0,05$) esse índice (Figura 14 A).

Embora não tenha sido observado efeito das concentrações de B no índice de extravasamento de eletrólitos, verificou-se que a época de fornecimento de B influenciou na integridade dos danos das membranas celulares quando submetidas ao efeito do Al (Figura 14 B). Desse modo, plantas suplementadas com B antes e durante o estresse provocado pelo Al apresentam os menores índices de extravasamento em relação ao fornecimento de B depois do estresse. No entanto, vale ressaltar que esse efeito só foi observado quando as plantas ficaram submetidas de até 40 mg L⁻¹ de Al.

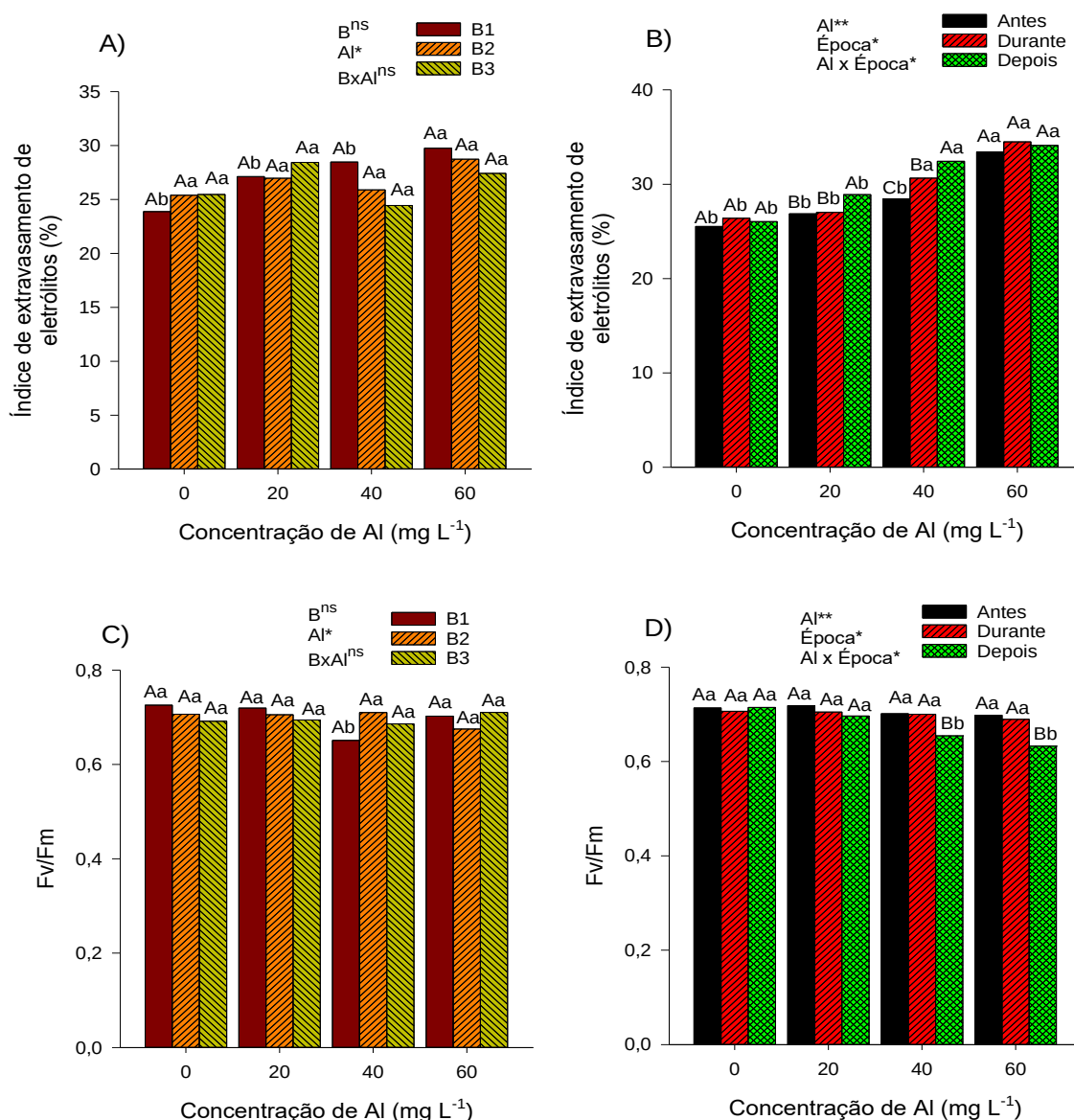


Figura 14. Efeito do fornecimento das concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) e da época em que foram fornecidas (antes, durante e depois) em relação a exposição ao Al, no índice de extravasamento de eletrólitos (A e B), e no

rendimento quântico do FSII (Fv/Fm) (C e D) de plantas de cana-de-açúcar, por 30 dias. ** e * significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente. ^{ns}: não significativo pelo teste F. Letras iguais demonstram não haver diferença em relação as concentrações de B (A e C) e as épocas de suplementação (B e D) pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

Houve redução da eficiência do fotossistema II com aumento das concentrações de Al (Figura 14 C e D). Embora não tenha sido notado efeito ($P > 0,05$) das concentrações de B para essa variável, o seu fornecimento antecipadamente e simultâneo ao do Al, mantiveram a eficiência do FSII em todas concentrações de Al (Figura 14 D). Considerando que o comprometimento induzido por Al na assimilação de CO₂ e de toda a cadeia fotossintética de transporte de elétrons pode estar associado à inibição do crescimento (Jiang et al. 2009), a manutenção da atividade fotossintética pode ter contribuído para melhoria do crescimento das plantas suplementadas com B antes ou durante o estresse.

Os resultados sobre o efeito no rendimento quântico mencionados acima concordam com relatos que mostraram que plantas de feijoeiro submetidas ao efeito do Al sem o fornecimento de B apresentam aumento na sensibilidade ao Al (Stass et al. 2007), e que o pré-tratamento com B aliviou a toxicidade do Al nas raízes de plantas de pepino e ervilha (Corrales et al. 2008 ; Yu et al. 2009). Esses estudos também sugerem que o pré-tratamento com B diminui a absorção do Al pela raiz e sua translocação para parte aérea, o que explicaria a redução na toxicidade do Al. Certamente isso também seja o motivo pelo qual as plantas suplementadas com B antes e durante o estresse apresentaram os menores índices de extravasamento de eletrólitos (Figura 14 B).

4.3 Teste de coloração das raízes com hematoxilina

A coloração com hematoxilina é um método prático e rápido para examinar a distribuição de Al na raiz (Yan et al., 2018), é um dos métodos de coloração mais adequados para a cultura da cana (Oliveira, 2012) e muito adotado em estudo envolvendo B e Al (Yan et., 2018; Riaz et al., 2018b).

Analisando a viabilidade celular das raízes pelo método de coloração com hematoxilina, observou-se uma diferença acentuada na distribuição de Al, quando as plantas ficaram expostas a diferentes concentrações, durante 3 dias (Figura 15). Com

exceção das plantas que não receberam Al (Figura 15 A), todas as demais tiveram suas raízes afetadas, refletindo numa cor escura e densa no ápice da raiz (coifa). No caso das plantas sujeitas a concentração de 60 mg L^{-1} a cor densa e escura se estendeu desde o meristema apical até a zona de alongamento radicular.

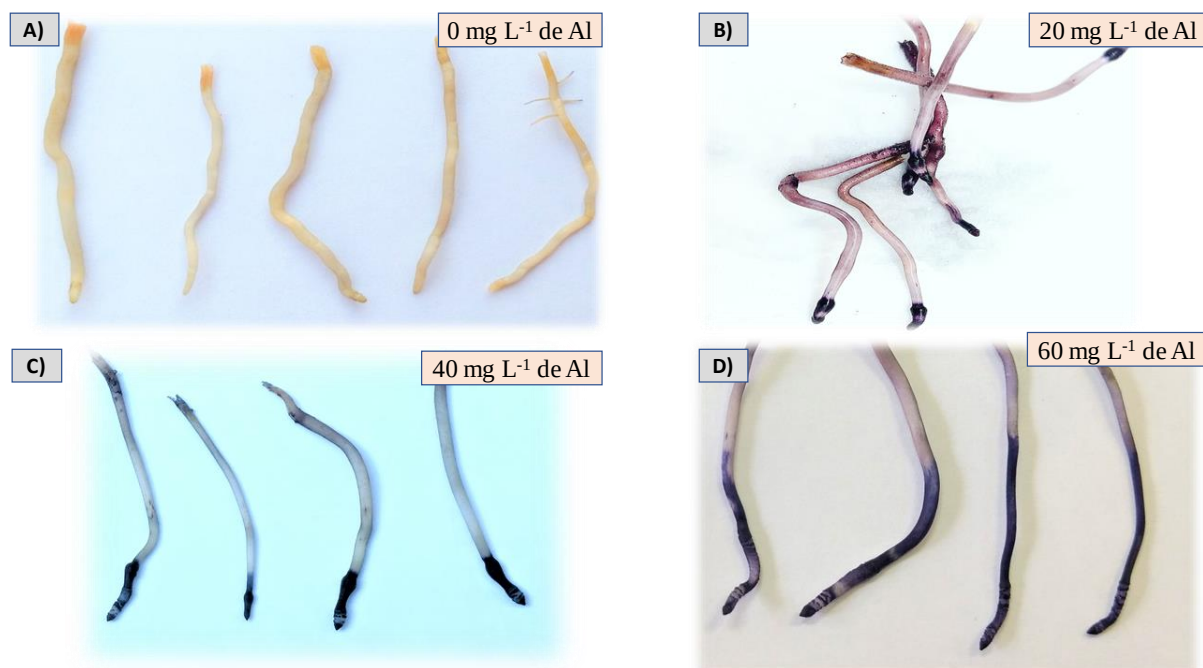


Figura 15. Coloração com hematoxilina para visualização da distribuição e/ou concentração de Al em zonas radiculares de mudas de cana-de-açúcar expostas a diferentes concentrações de Al (0, 20, 40 e 60 mg L^{-1}) durante 3 dias. As raízes utilizadas são representativas de 4 plantas individuais (repetições).

Quando as plantas foram suplementadas com B revelam padrões distintos de escurecimento do tecido radicular. Do mesmo modo, os testes com hematoxilina também apresentaram resultados distintos quando a suplementação de B foi feita em momentos diferentes em relação a exposição ao Al (Figuras 16, 17 e 18), e tais resultados podem ser interpretados de forma mais clara à luz dos padrões definidos por Oliveira (2012), apresentado na figura 19. À medida que aumenta o número da classe, em função da intensidade de coloração e da região corada, é indicativo de aumento de sensibilidade da planta ao Al (figura 19).

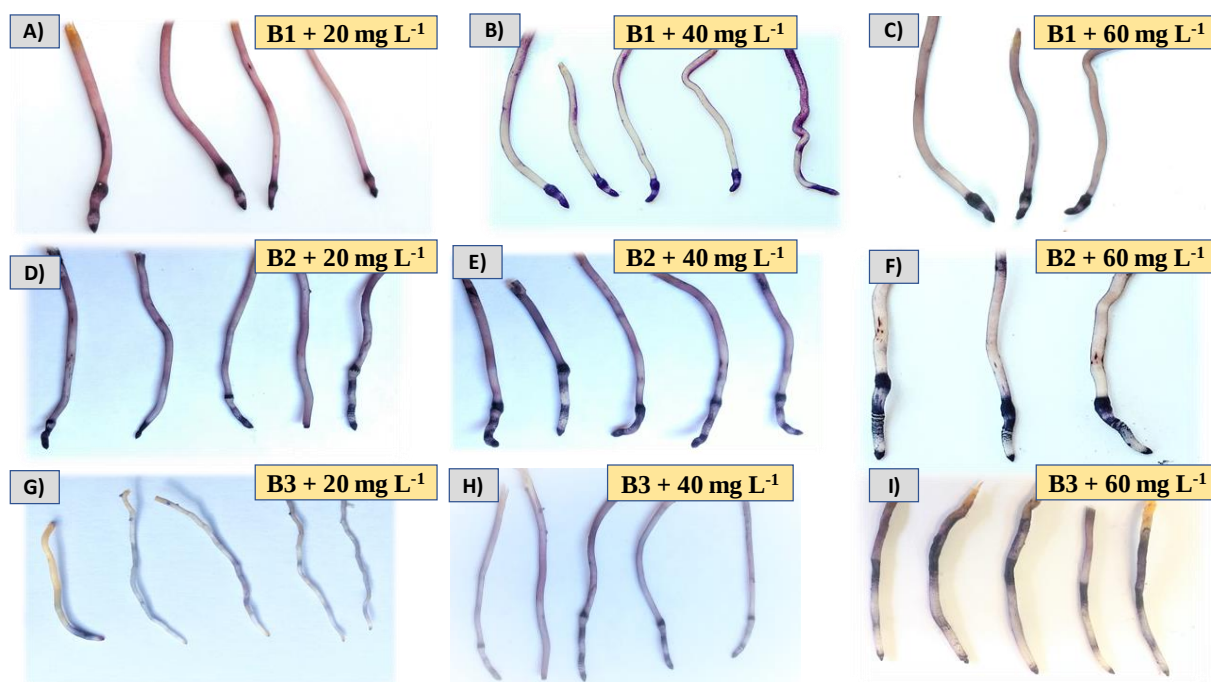


Figura 16. Coloração com hematoxilina para visualização da distribuição e concentração de Al em zonas radiculares de mudas de cana-de-açúcar que foram expostas a diferentes concentrações de Al (20, 40 e 60 mg L⁻¹) juntamente com concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) durante 3 dias. As raízes utilizadas são representativas de 4 plantas individuais (repetições).

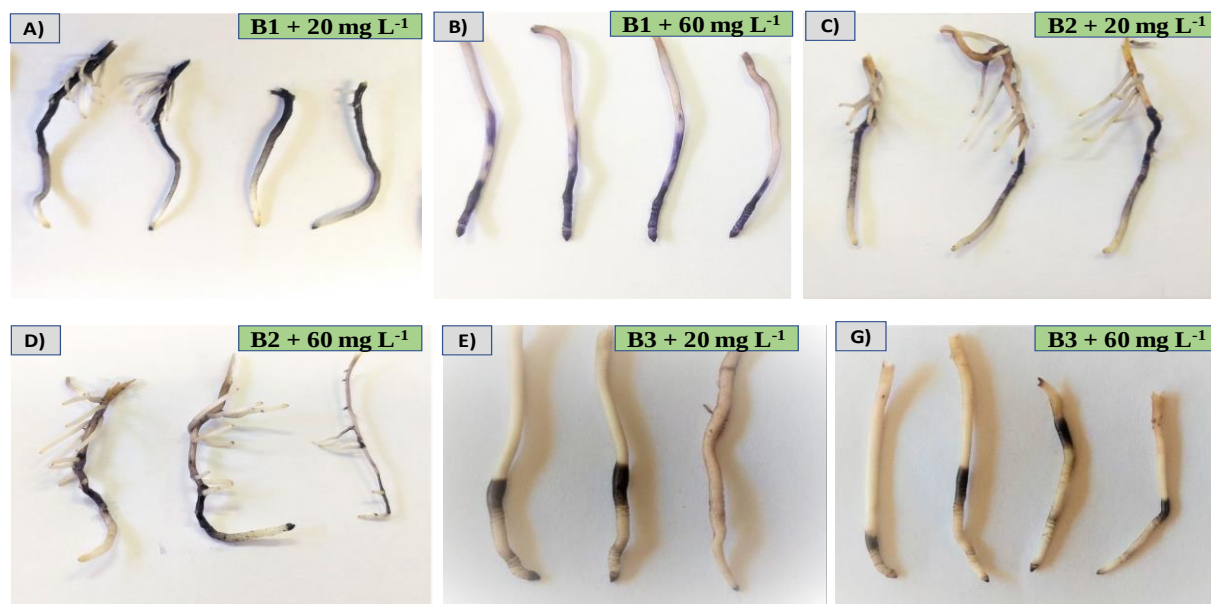


Figura 17. Coloração com hematoxilina para visualização da distribuição e concentração de Al em zonas radiculares de mudas de cana-de-açúcar pré-tratadas com concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) durante 3 dias e depois expostas a diferentes concentrações de Al (20 e 60 mg L⁻¹) por mais 3 dias. As raízes utilizadas são representativas de 4 plantas individuais (repetições).



Figura 18. Coloração com hematoxilina para visualização da distribuição e concentração de Al em zonas radiculares de mudas de cana-de-açúcar pré-tratadas com diferentes concentrações de Al (20 e 60 mg L⁻¹) por 3 dias e depois expostas a concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) por mais 3 dias. As raízes utilizadas são representativas de 4 plantas individuais (repetições).

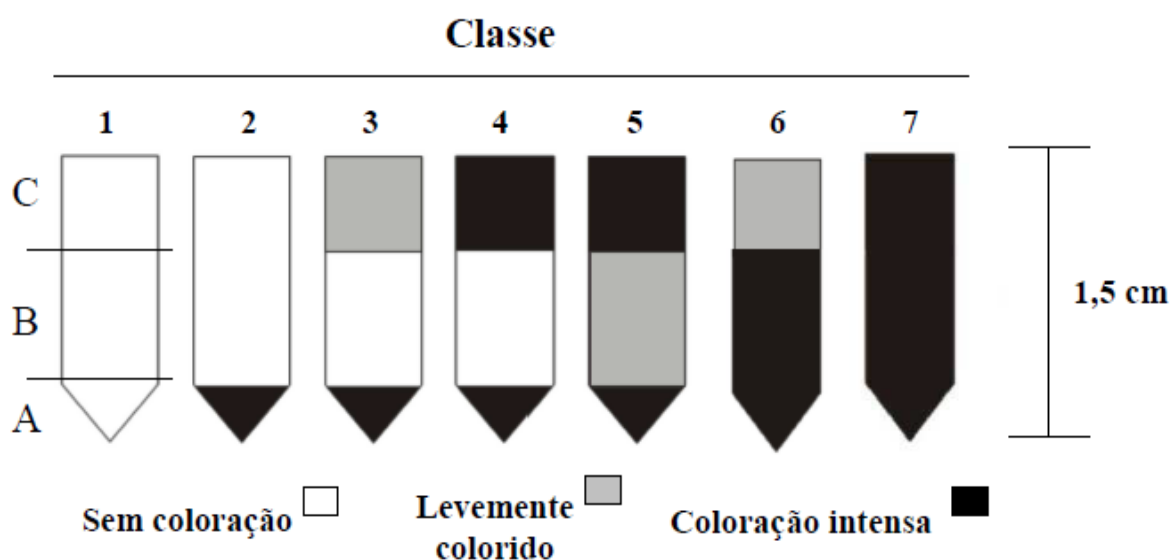


Figura 19. Classes de acúmulo de Al em raízes, adaptadas para cana-de-açúcar, por meio de teste de coloração pela hematoxilina. (A) coifa; (B) meristema apical (região de divisão celular) e região de alongamento celular e (C) região de maturação (região basal). Fonte: (Oliveira, 2012).

De acordo com as classes de acúmulo (Figura 19), a partir da classe 5 a planta não detém mais de mecanismo de exclusão do Al. Isto é, o maior acúmulo de Al ocorre na região meristemática ou região de divisão celular onde os danos físicos são maiores, características de variedades sensíveis ou que foram severamente afetadas (Oliveira, 2012). O contrário das classes 3 e 4, em que esse mecanismo é representado pelas zonas de exclusão possibilitadas pelo acúmulo de Al na região de maturação/basal.

Embora o efeito do boro, na intensidade de coloração, tenha ocorrido nas três épocas de suplementação, esse efeito foi mais perceptível quando a suplementação foi feita durante (Figura 16) e antes (Figura 18) a exposição ao Al.

Quando o B é aplicado durante o estresse (Figura 16), na menor concentração de B (B1) (Figura 16 A, B e C) o Al ficou concentrado nas regiões apicais das raízes. Por outro lado, na presença de maiores concentrações de B (B2 e B3) o Al ficou mais concentrado em zonas acima da região meristemática. Com elevada suplementação de B (60 mmol L^{-1}), pouco efeito do Al foi observado na coloração do tecido radicular, especialmente nas concentrações mais baixas de Al (Figura 16 G e H).

Os resultados referentes ao acúmulo desigual de Al em zonas radiculares sob diferentes concentrações de B, nesse estudo, são consistentes com boa parte da literatura publicada (Kollmeier et al., 2000 ; Illés et al., 2006; Li et al., 2018; Yan et., 2018; Yan et., 2019). E o principal argumento defendido é a necessidade de suprimento de B suficiente e/ou suplementar às plantas para reduzir a absorção de Al, consequentemente reduzindo a lesão e os danos nas raízes.

A coloração com hematoxilina revelou influência positiva do suprimento de B na tolerância ao Al na cultura do milho, pepino (Corrales et al. 2008) e ervilha (Li et al. 2018) de modo que plantas que receberam B adequado e suplementar exibiram coloração menos intensa na ponta da raiz, indicando menos acúmulo de Al. Segundo os autores a zona de transição/meristemática da raiz é sensível à toxicidade de Al e apresenta menor agravamento com a disponibilidade de B. Observaram ainda que os gradientes de pH nas zonas radiculares, que são essenciais para o crescimento da raiz, foram bastante influenciados pelo fornecimento de B promovendo a alcalinização da superfície radicular e neutralizando os efeitos do Al.

Quando as mudas de cana-de-açúcar são pré-tratadas com concentrações de B (B1, B2 e B3) durante 3 dias antes de serem expostas a diferentes concentrações de Al por mais 3 dias houve uma diminuição do escurecimento na região apical das raízes, com os resultados dos testes se enquadrando nas classes 3 e 4 (Figura 19).

A menor concentração de B (B1) fornecida antes da exposição das plantas a 20 mg L⁻¹ de Al, causou uma menor concentração de Al na região meristemática da raiz em relação ao mesmo nível de B fornecido durante o estresse (Figuras 17 A e 16 A). Outro fato interessante a ser observado é que parte das plantas que foram pré-tratadas com boro (Figura 17) conseguiram emitir raízes laterais, e aparentemente sem danos provocados pelo Al.

Embora tenha sido observado uma ligeira diminuição da concentração de Al nas extremidades das raízes com as maiores concentrações de B aplicada após a exposição ao Al (Figura 18 E e F), estas raízes apresentaram coloração mais intensa nas extremidades em relação as plantas que foram suplementadas antes e durante o estresse. Em alguns tratamentos, por exemplo, nas figuras 18 A, B e D, o Al ficou concentrado praticamente em toda extensão da raiz, enquadrando se nas classes de cúmulo 5, 6 e 7 (Figura 19).

A deficiência ou baixa disponibilidade de B na planta estimula o acúmulo de pectina esterificada não-metilada que, por sua vez, promove a alta quantidade de cargas negativas (Horst et al., 2010, Li et al., 2017b). Vale ressaltar que as cargas negativas da parede celular são provavelmente os principais locais de adsorção de Al³⁺ (Wang et al., 2004; Yang et al., 2011).

Nesse sentido, um dos fatores que afetam a sensibilidade da planta ao Al é o conteúdo de pectina não metilada na zona de transição radicular (Li et al., 2016; Li et al., 2018). Na cultura do feijão foi observado que as plantas que não receberam B antes da exposição ao Al, o conteúdo total de pectina não-metilada foi significativamente maior nos ápices radiculares em relação às plantas que foram suplementadas com B, refletindo aumento das cargas negativas das paredes celulares e afetando significativamente a captação e ligação de Al na raiz (Stass et al., 2007).

Isso certamente explica o porquê das plantas, nesse trabalho, que receberam B depois do estresse, terem sido as mais afetadas pela a toxidez do Al. Explica também os resultados apresentados pela coloração das raízes com hematoxilina que revelou qualitativamente diferenças no acúmulo de Al na raiz mediante fornecimento de B (Figuras 16, 17 e 18).

4.4 Teores de açúcares totais e sacarose, concentrações de boro, aminoácidos, nitrato, teor de nitrogênio e proteína bruta

Observou se que as concentrações de açúcares foram afetadas com o fornecimento do Al na solução (Figura 20). No entanto, notou se também que tal efeito foi minimizado com o fornecimento do Boro (Figuras 20 A e C). Plantas que receberam a maior concentração de B foram as menos prejudicadas pelo Al.

Ouve também efeito significativo nas concentrações de açúcares quando as plantas foram suplementadas com B em épocas distintas em relação a exposição ao Al (Figura 20 B e D). Plantas que foram pré tratadas com B apresentaram maiores concentrações de açúcares em relação às plantas que receberam B durante e após o estresse causado pelo Al. Analisando a concentração de sacarose especificamente, as plantas que receberam B depois da exposição do Al foram as que apresentaram as menores concentrações (Figura 20 D).

Quando o fornecimento de B é limitado, processos fotossintéticos são prejudicados e a assimilação de CO₂ é reduzida. A mesma coisa acontece quando a planta é submetida ao estresse provocado pelo Al (Guo et al., 2017). Com isso, a produção de açúcares é significativamente afetada, conforme mostrado nesse estudo.

As concentrações de açúcares e sacarose nos tecidos foliares foram diminuídas com B deficiente. No entanto, tem estudos mostrando cenário diferente em condições de deficiência de B, isto é, o acúmulo excessivo de açúcares solúveis, como glicose, frutose e amido, nas folhas das plantas, devido a capacidade reduzida de translocar os fotossintatos nesta situação (Camacho-Cristóbal et al., 2004; Wang et al., 2010).

Avaliando o efeito da deficiência de B nos perfis de açúcares em plantas de *Plantago Major L.*, Pommeranian et al. (2019) observaram diferenças quantitativas para as concentrações de frutose e sacarose. Os níveis de frutose aumentaram significativamente, especificamente, no mesofilo de plantas cultivadas sob a condição de deficiência de B. As concentrações de sacarose, por outro lado, diminuíram cerca de 25% nos feixes vasculares. Essa alta redução na concentração sugeriu que a sacarose foi menos sintetizada ou carregada com menor eficiência no floema em plantas cultivadas sob baixo teor de B. Além disso, foi demonstrado que altas concentrações de elementos como o Al e Zn, mas também de níquel e cobalto tóxicos induzem a formação de calose no floema e reduzem a carga de sacarose em veias menores (Wissemier et al., 1987; Rauser e Samarakoon, 1980). Um cenário semelhante não pode ser transferido de forma conclusiva para as circunstâncias aqui observadas, no entanto, pode-se especular que o aumento das concentrações de Al sob baixo B já induziu contramedidas nos níveis celular e tecidual, o que pode contribuir para a redução na concentração de sacarose.

Quanto ao conteúdo de B na parte aérea (P.A) e na raiz das mudas de cana-de-açúcar, foi significativamente influenciado pelas concentrações de B e Al testadas. Além disso, a época de suplementação de B em relação à exposição ao Al também afetou na concentração de B na planta (Figura 21).

Tanto na parte aérea como na raiz as maiores concentrações de B foram observadas quando as plantas foram suplementadas com B adequado e suplementar (0,03 e 0,06 mol L⁻¹, respectivamente). Os resultados mostram que comparativamente mais B foi encontrado na parte aérea do que nas raízes. Concordando com resultados de outros trabalhos (Hajiboland et al., 2015; Riaz et al., 2018).

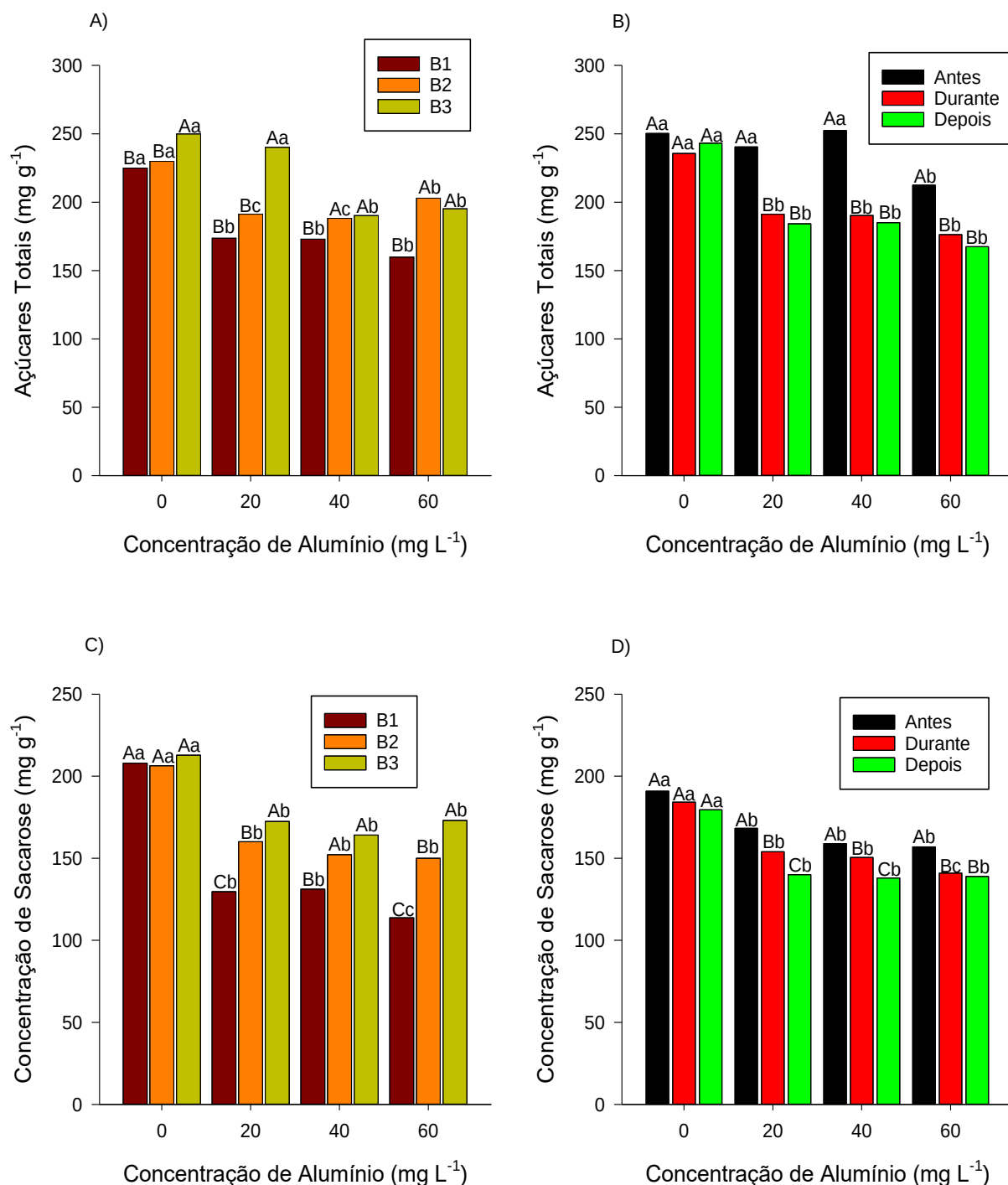


Figura 20. Efeito do fornecimento das concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) na concentração de açúcares totais (A e B) e sacarose (C e D) em folhas de mudas de cana-de-açúcar submetidas a diferentes concentrações de Al por 30 dias. ** e * significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente. ^{ns}: não significativo pelo teste F. Letras maiúsculas e minúsculas iguais demonstram não haver diferença em relação às concentrações de B e Al, respectivamente, pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

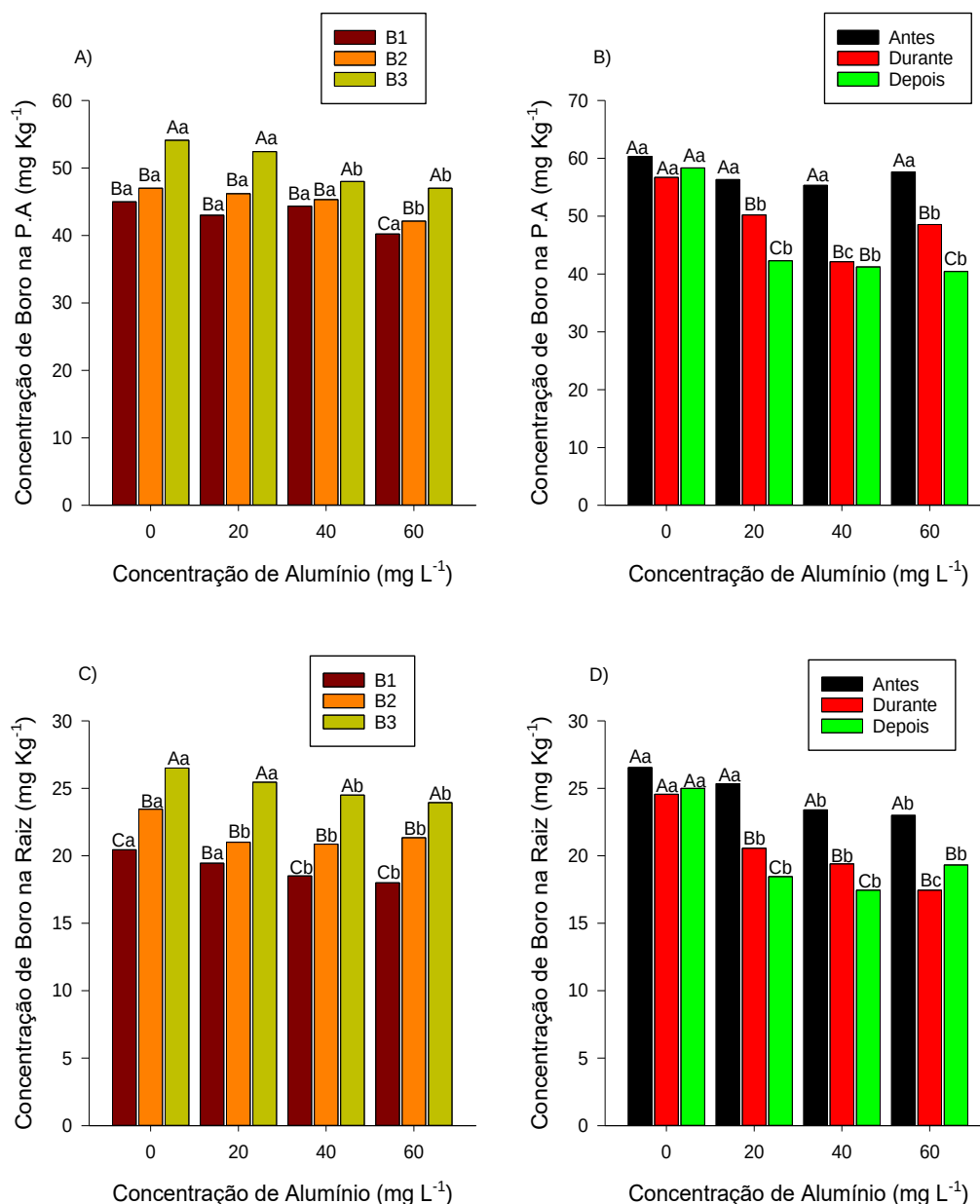


Figura 21. Efeito do fornecimento das concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) na concentração de B na parte aérea (P.A) (A e B) e na raiz (C e D) em plantas de cana-de-açúcar submetidas a diferentes concentrações de Al por 30 dias. ** e * significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente. ns: não significativo pelo teste F. Letras maiúsculas e minúsculas iguais demonstram não haver diferença em relação às concentrações de B e Al, respectivamente, pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

O nitrogênio (N) é um elemento essencial em materiais biológicos e mudanças em sua disponibilidade e metabolismo são de particular importância para a manutenção da alta produtividade das culturas (Ullrich, 2002). O nitrato (NO₃) é a fonte predominante de N para as culturas na maioria dos solos agrícolas.

Vários estudos apontam que o B exerce papel importante no metabolismo do N. O B demonstrou ser essencial na fixação de N em heterocistos de cianobactérias, por exemplo (Bonilla et al. 1990). Em vários trabalhos com plantas como beterraba sacarina (*Beta vulgaris*), tomate, girassol (*Helianthus annuus*), milho (*Zea mays*) e colza (*Brassica napus*) foi observado aumento em concentrações de nitrato em condições de deficiência de B (Bonilla et al. 1988; Kastori e Petrovic 1989; Ramon et al. 1989; Shen et al. 1993).

Nesse trabalho, não foi observada diferença significativa na concentração de nitrato mediante o fornecimento de B na ausência de Al (Figura 22 C). No entanto, quando submetidas ao estresse pelo Al, as concentrações de nitrato são maiores nas folhas das plantas que receberam B2 e B3. O mesmo comportamento também foi observado para a concentração de aminoácidos (AA) (Figura 22 A).

Apesar da concentração de nitrato não ter sido afetada mediante as concentrações de B na ausência de Al nesse trabalho, a deficiência de B, bem como a toxicidade, afetam os níveis de nitrato de maneira significativa em diferentes espécies, normalmente levando ao acúmulo de nitrato (Camacho e González, 1999; Cervilha et al., 2009). Estudando o efeito do B no metabolismo do nitrogênio em beterraba sacarina, Bonilla et al. (1980) descobriram que em nível adequado de B ocorreu uma diminuição na concentração de nitrato na seiva do xilema em comparação com a toxicidade ou nível de deficiência de B. Os autores relataram que o B tem um possível papel no metabolismo do nitrogênio através de seu efeito na síntese de proteínas da enzima nitrato redutase.

Trabalhando em plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum* cv. Sevilla), Ruiz et al. (1998) observaram um efeito positivo do B na concentração de B nas folhas e na assimilação de nitrato em casa de vegetação, e relataram que essas mudanças podem ser devido a uma ativação das proteínas enzimáticas envolvidas na assimilação de nitrato. Embora ainda não haja evidência de um efeito direto de B na enzima nitrato redutase, B pode facilitar a translocação de nitrato e a disponibilidade para redução (Bellaloui et al., 2010).

Trabalhando com tomate, Cervilha et al. (2009) concluíram que a toxicidade do B causa inibição da redução de nitrato e diminui a concentração orgânica de N em

plantas de tomate, resultando em redução do crescimento. Outros trabalhos também apontaram que níveis suplementares de B demonstraram reduzir a atividade da enzima nitrato redutase em girassol, trigo (*Triticum aestivum*) e cevada (*Hordeum vulgare*) (Kastori e Petrovic, 1989; Mahboobi et al., 2002).

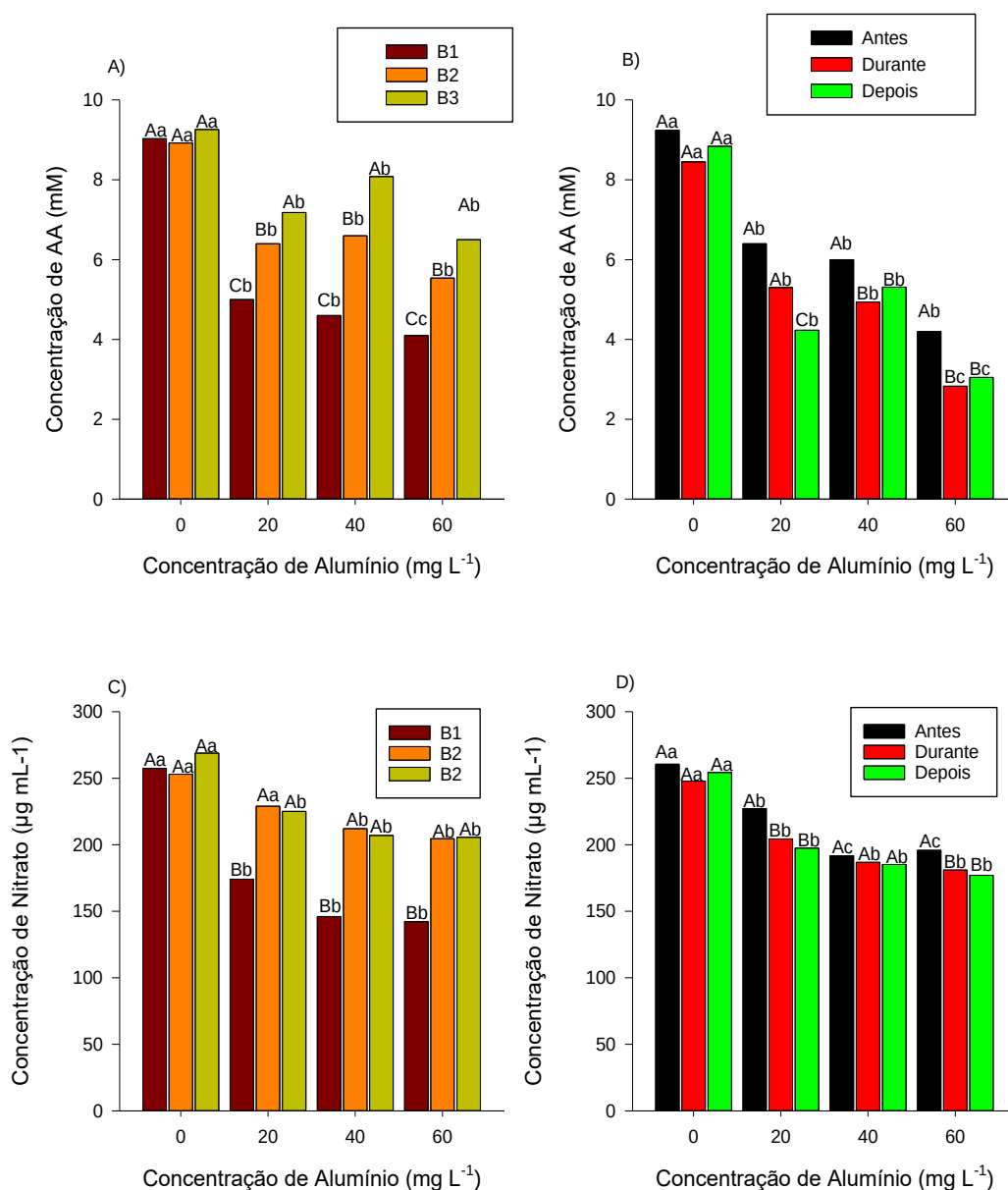


Figura 22. Efeito do fornecimento das concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) na concentração de aminoácidos (AA) (A e B) e nitrato (C e D) em folhas de mudas de cana-de-açúcar submetidas a diferentes concentrações de Al por 30 dias. ** e * significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente. ^{ns}: não significativo pelo teste F. Letras maiúsculas e minúsculas iguais demonstram não haver diferença em relação às concentrações de B e Al, respectivamente, pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

A resposta das culturas ao B pode variar tanto entre espécies de plantas, tipo de solo e condições ambientais, como também seu excesso / deficiência podem afetar a disponibilidade e a absorção de outros nutrientes de plantas (Tariq; Mott, 2007). O B é conhecido por ter influência favorável sobre a absorção de cátions, retardando a absorção de ânions e ter um papel essencial no metabolismo de carboidratos e de nitrogênio (Batey, 1971).

Nesse trabalho, observou-se que os teores de teor de N e proteína bruta (PB) foram afetados pelos níveis de B. Quando suplementadas com baixa concentração de B (B1) as plantas expostas ou não ao Al, apresentaram baixo teor de N e de proteína bruta. No entanto, quando suplementadas com B2 e B3 os teores de N e a concentração de proteína tiveram significativo aumento tanto na parte aérea como na raiz (Tabela 4).

Tabela 4. Efeito do fornecimento das concentrações de 15, 30 e 60 mmol L⁻¹ de B (B1, B2 e B3) no teor de nitrogênio e proteína bruta (PB) em mudas de cana-de-açúcar submetidas a diferentes concentrações de Al por 30 dias. Letras maiúsculas e minúsculas iguais demonstram não haver diferença em relação às concentrações de B e Al, respectivamente, pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

Proteína bruta na raiz (g kg ⁻¹)				
Teor de B	Concentrações de Al (mg L ⁻¹)			
	0	20	40	60
B1	89,600 Ba	91,374 Ba	89,374 Ba	79,685 Ba
B2	109,17 Aa	88,845 Bb	92,842 Bb	90,863 Bb
B3	116,39 Aa	109,85 Aa	106,69 Aa	118,86 Aa
Proteína bruta na parte aérea (g kg ⁻¹)				
Teor de B	Concentrações de Al (mg L ⁻¹)			
	0	20	40	60
B1	68,394 Ca	70,196 Ba	72,509 Ba	62,072 Ba
B2	88,913 Ba	78,798 Bb	80,022 ABab	79,420 Aab
B3	101,93 Aa	92,663 Aab	87,018 Ab	86,572 Ab
CV (%)	14,8			
Teor de nitrogênio na raiz (g kg ⁻¹)				
Teor de B	Concentrações de Al (mg L ⁻¹)			
	0	20	40	60
B1	14,336 Ba	14,620 Ba	14,300 Ba	12,750 Ba
B2	17,467 Aa	14,215 Bb	14,855 Bb	14,538 Bb
B3	18,622 Aa	17,577 Aa	17,071 Aa	19,018 Aa
CV (%)	11,11			
Teor de nitrogênio na parte aérea (g kg ⁻¹)				
Teor de B	Concentrações de Al (mg L ⁻¹)			
	0	20	40	60
B1	10,943 Ba	11,341 Aa	11,269 Aa	9,6631 Ba
B2	14,045 Aa	12,608 Aa	12,803 Aa	12,353 ABa
B3	16,221 Aa	14,517 Aa	13,923 Aa	14,054 Aa
CV (%)	10,15			

Os resultados observados nesse estudo estão de acordo com os resultados encontrados por Riaz et al. (2018) avaliando o efeito atenuador do B na toxicidade do Al em mudas de Laranja. Em estudo com tabaco (*Nicotiana tabacum*), Ruiz et al. (1998) e López-Lefebvre et al. (2002) também indicaram efeito positivo do B no metabolismo de N, estimulando a assimilação do N nas plantas resultando em acúmulo de aminoácidos e proteínas.

Os teores de nitrogênio e proteína total não apresentaram diferenças significativas diante do fornecimento de diferentes concentrações de Al, exceto quando foram submetidas a 30 mmol L⁻¹ de B (B2).

5. CONCLUSÕES

O boro atenua o efeito da toxicidade do alumínio sobre o crescimento de plantas de cana-de-açúcar, especialmente quando suplementado antes e durante a exposição ao Al.

O aumento da concentração de B proporcionou maior desenvolvimento do sistema radicular e melhorias no crescimento da parte aérea de plantas de cana-de-açúcar sob toxicidade de Al.

As concentrações de açúcares e sacarose nos tecidos foliares foram diminuídas com suplementação de 15 mmol L⁻¹ de B e plantas que foram pré tratadas com B apresentaram maiores concentrações de açúcares.

Efeito positivo do B foi observado no metabolismo de N, resultando em acúmulo de aminoácidos e proteínas.

Plantas suplementadas com boro antes e durante a exposição ao Al revelaram, pelo teste de hematoxilina, menor acúmulo de Al na região meristemática da raiz em relação aquelas suplementadas pós estresses.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu CA, Raji VB, Abreu MF, Gonzáles AP (2005) Routine soil testing to monitor heavy metals and boron. *Scientia Agricola*. 62: 564-571.
- Aquea F, Federici F, Moscoso C, Vega A, Jullian P, Haseloff J, Arce-Johnson P (2012) A molecular framework for the inhibition of *Arabidopsis* root growth in response to boron toxicity. *Plant Cell Environ*, 35(4):719–734.
- Arunakumara K, Walpola BC, Yoon MH (2012) How do Citrus Crops Cope with Aluminum Toxicity? *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer* 45: 928-935.
- Bajji M, Kinet JM, Lutts S (2001) The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regulation* 0: 1-10.
- Barbosa JC, Maldonado Junior W (2015) AgroEstat - Sistema para análises estat  sticas de ensaios agron  micos. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 396 p.
- Barbosa JZ, Motta ACV, Consalter R, Pauletti V (2017) Wheat (*Triticum aestivum* L.) response to boron in contrasting soil acidity conditions. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 12: 148-157.
- Batey T (1971) Manganese and boron deficiency. Trace elements in soils and crops. Technical Bulletin. Her Majesty's Stationary Office, London,137-148.
- Bellaloui N, Krishna N, Anne M, Gillen, Abel CA (2010) Nitrogen metabolism and seed composition as influenced by foliar boron application in soybean. *Solo da Planta*, 336:143–155.
- Berger KC, Troug E (1945) Boron availability in relation to soil reaction and organic matter content. *Soil Science Society of America Proceedings*, 10: 113-116.
- Blevins DG e Lukaszewski KM (1998) Boron in plant structure and function. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49: 481-500.
- Bojórquez-Quintal E, Escalante-Maga  a C (2017) Echevarría-Machado, I; Martínez-Est  vez, M. Aluminum, a Friend or Foe of Higher Plants in Acid Soils. *Frontiers in Plant Science*, 8(1767): 1-18.
- Bolaños L, Lukaszewski K, Bonilla I, Blevins D (2004) Why boron? *Plant Physiol. Biochem*, 42, 907–912.
- Bonilla I, Cadah  a C, Carpena O, Hernando V (1980) Effects of boron on nitrogen metabolism and sugar levels of sugar beet. *Plant Soil*, 57, 3–9.
- Bonilla I, Mateo P, Garate A (1988) Acci  n del boro sobre el metabolismo nitrogenado en *Lycopersicum esculentum* cv. Dombo, cultivado en hidropon  a. *Agrochimica*, 32, 276–284.
- Bose J, Babourina O, Rengel Z (2011) Role of magnesium in alleviation of aluminium toxicity in plants. *J. Exp. Bot*, 62: 2251–2264.

- Bose J, Babourina O, Shabala S, Rengel Z (2013) Low-pH and aluminum resistance in *Arabidopsis* correlates with high cytosolic magnesium content and increased magnesium uptake by plant roots. *Plant Cell Physiol*, 54: 1093–1104.
- Braccini MCL, Martinez HEP, Silva EAM, Braccini AL, Scapin CA (2000) Crescimento de plantas e coloração das raízes com hematoxilinas como critérios de avaliação de genótipos de café quanto à tolerância à toxidez por Alumínio. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 24: 59-68.
- Brdar-Jokanović M (2020) Review: Boron Toxicity and Deficiency in Agricultural Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4): 1-20.
- Brown PH, Hu H (1996) Phloem mobility of boron is species dependent: evidence for phloem mobility in sorbitol-rich species. *Ann Bot*, 77(5):497–506.
- Brunner I, Sperisen C (2013) Aluminum exclusion and aluminum tolerance in woody plants. *Front. Plant Sci.* 4:172.
- Camacho-Cristóbal JJ, González-Fontes A (1999) Boron deficiency causes a drastic decrease in nitrate content and nitrate reductase activity, and increases the content of carbohydrates in leaves from tobacco plants. *Planta*, 209: 528–536.
- Camacho-Cristóbal JJ, Navarro-Gochicoa MT, Rexach J, González-Fontes A, Herrera-Rodríguez MB (2018) Plant response to boron deficiency and boron use efficiency in crop plants. *Plant micronutrient use efficiency*, 109–121.
- Camacho-Cristóbal JJ, Rexach J, González-Fontes A (2008) Boron in plants: deficiency and toxicity. *J Integr Plant Biol*, 50(10):1247–1255.
- Cervilla LM, Blasco B, Ríos JJ, Rosales MA, Rubio-Wilhelmi MM, Sánchez-Rodríguez E, Romero L, Ruiz JM (2009) Response of nitrogen metabolism to boron toxicity in tomato plants. *Plant Biol*, 11(5):671-7.
- Ch`ng HY, Ahmed OH, Majid NMA (2014) Improving phosphorus availability in an acid soil using organic amendments produced from agroindustrial wastes. *The Scientific World Journal*, 2014:1-6.
- Chatzissavvidis C, Therios IN (2011) Boron in higher plants. In: Perkins GL (ed) *Boron: compounds, production and application*. Nova Science Publishers, 147–176.
- Che J, Yamaji N, Shen RF, Ma JF (2016) An Al-inducible expansin gene, OsEXPA10 is involved in root cell elongation of rice. *Plant J.* 88: 132–142.
- Chen LS, Qi YP, Jiang HX, Yang LT, Yang GH (2010) Photosynthesis and photoprotective systems of plants in response to aluminum toxicity. *African Journal of Biotechnology* 54: 9237-9247.
- Chen ZC, Liao H (2016) Organic acid anions: An effective defensive weapon for plants against aluminum toxicity and phosphorus deficiency in acidic soils. *Journal of Genetics and Genomics*, 43(11): 631–638.
- Choi EY, Kolesik P, Mcneill A, Collins H, Zhang Q, Huynh BL, Graham R, Stangoulis J (2007) The mechanism of boron tolerance for maintenance of root growth in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Cell Environ*, 30(8):984–993.

- Collard BCY, Mackill DJ (2008) Marker-assisted selection: An approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci*, 363: 557–572.
- Conab - Companhia nacional de abastecimento (2021) Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar, Brasília, 8(3).
- Corrales I, Poschenrieder C, Barceló J (2008) Boron-induced amelioration of aluminum toxicity in a monocot and a dicot species. *J. Plant Physiol* 165: 504-513.
- Dantas ACM, Forte GRL, Silva JB, Nezi AN, Rodrigues AC (2001) Tolerância ao alumínio em porta-enxertos somaclonais de macieira cultivados em solução nutritiva. *Pesquisa agropecuária brasileira* 36: 615-623.
- Dawood M, Cao F, Jahangir MM, Zhang G, Wu F (2012) Alleviation of aluminum toxicity by hydrogen sulfide is related to elevated *ATPase*, and suppressed aluminum uptake and oxidative stress in barley. *J. Hazard. Mater*, 209–210: 121–128.
- Delhaize E, Ryan PR, Randall PJ (1993) Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.): II. Aluminum-stimulated excretion of malic acid from root apices. *Plant Physiology*, 103: 695-702.
- Dell B, Huang L (1997) Physiological response of plants to low boron. *Plant Soil*, 193: 103–120, 1997.
- Dionisio-Sese ML, Tobita S (1998) Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science* 135: 1-9.
- Dordas C, Chrispeels MJ, Brown PH (2000) Permeability and channel-mediated transport of boric acid across membrane vesicles isolated from squash roots. *Plant Physiol*, 124: 1349–1361.
- Ecco M, Santiago EF, Lima PR (2014) Respostas biométricas em plantas jovens de cana-de-açúcar submetidas ao estresse hídrico e ao alumínio. *Comunicata Scientiae* 5: 59-67.
- Eekhout T, Larsen P, Veylder L (2017) Modification of DNA checkpoints to confer aluminum tolerance. *Trends Plant Science*, 22(2): 102-105.
- Esim N, Tiryaki D, Karadagoglu O, Atici O (2013) Toxic effects of boron on growth and antioxidant system parameters of maize (*Zea mays* L.) roots. *Toxicol Ind Health*, 29(9):800–805.
- Favaretto N, Motta ACV, Barcik C, Brasil S (2007) Shoot and Root Responses of *Trifolium vesiculosum* to Boron Fertilization in an Acidic Brazilian Soil. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 50: 597-604.
- Fleischer A, O'Neill MA, Ehwald R (1999). The pore size of non-graminaceous plant cell walls is rapidly decreased by borate ester cross-linking of the pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II. *Plant Physiol* 121: 829–838.

- Fleischer A, Titel C, Ehwald R (1998) The boron requirement and cell wall properties of growing and stationary suspension-cultured *Chenopodium album* L. cells. *Plant Physiol* 117: 1401–1410.
- Fleming GA (1980). Essential micronutrients. I. Boron and molybdenum. In: Applied soil trace elements, B. E. Davies (Ed.). John Wiley and Sons, 155-197.
- Furlani PR, Furlani AM (1988) Composição de pH de solução nutritiva para estudos fisiológicos e seleção de plantas em condições nutricionais adversas. Campinas: Instituto Agrônomo, 34 p. (Boletim Técnico, 121).
- Goldbach HE, Wimmer MA (2007). Boron in plants and animals: is there a role beyond cell wall structure? *J Plant Nutr Soil Sci* 170: 39–48.
- Grauer UE, Horst WJ (1992) Modeling cation amelioration of aluminum phytotoxicity. *Soil Sci. Soc. Am. J*, 56: 166–172.
- Guo P, Chen LS, Yang LT (2018) Aluminum-responsive genes revealed by RNA-Seq and related physiological responses in leaves of two Citrus species with contrasting aluminum-tolerance. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 158: 213–222.
- Guo P, Li Q, Qi Y, Yang L, Ye X, Chen H, Chen L (2017) Sulfur-Mediated-Alleviation of Aluminum-Toxicity in Citrus grandis Seedlings. *International Journal of Moleculr Sciences* 18: 2570.
- Guo TR, Chen Y, Zhang YH, Jin YF (2006) Alleviation of Al Toxicity in Barley by Addition of Caicium. *Agricultural Sciences in China* 5: 828-833.
- Gupta UC (1968) Relationship of total and hot-water soluble boron and fixation of added boron, to properties of Podzol soils. *Soil Science Society of America Proceedings*, 32: 45-48.
- Gupta UC, Jame YM, Campbell CA, Leyshon AJ, Nicholaichuk W (1985). Boron toxicity and deficiency: A review. *Canadian Journal of Soil Science*, 65: 381- 409.
- Hajiboland R, Bastani S, Bahrami-Rad S, Poschenrieder C (2015) Interactions between aluminum and boron in tea plants (*Camellia sinensis*). *Acta Physiol Plant*. 37:54.
- Hartwig I, Oliveira AC, Carvalho FIF, Bertan I, Silva JAG, Schmidt DAM, Valério IP, Maia LC, Fonseca DAR, Reis CES (2007) Mecanismos associados à tolerância ao alumínio em plantas. *Semina: Ciências Agrárias*, 28: 219-228.
- Hawkins DM, Weisberg S (2017) Combining the box-cox power and generalised log transformations to accommodate nonpositive responses in linear and mixed-effects linear models. *South African Statistical Journal* 51: 317 – 328.
- Heidarabadi, MD, Ghanati F, Fujiwara T (2011). Interaction between boron and aluminum and their eFFects on phenolic metabolism *Linum usitatissimum* L. roots. *Plant Physiology and Biochemistry* 49: 1377-1383.
- Hermann ER, Câmara GMS (1999) Um método simples para estimar a área foliar de cana-de-açúcar. *STAB – Açúcar, Álcool e Subprodutos* 17: 32-34.

- Horst WJ, Wang Y, and Eticha D (2010) The role of the root apoplast in aluminium-induced inhibition of root elongation and in aluminium resistance of plants: a review. *Ann Bot* 106: 185–197.
- Hwang JU, Song WY, Hong D, Ko D, Yamaoka Y, Jang S, et al. (2016). Plant ABC transporters enable many unique aspects of a terrestrial plant's lifestyle. *Mol. Plant*, 9: 338–355.
- Iqbal MT (2013) Phosphorus enhances aluminium tolerance in both aluminium-tolerant and aluminium-sensitive wheat seedlings. *S. Afr. J. Plant Soil*, 30: 13–21.
- Jiang H, Tang N, Zheng J, Li Y, Chen L (2009) Phosphorus alleviates aluminum-induced inhibition of growth and photosynthesis in *Citrus grandis* seedlings. *Physiologia Plantarum* 137: 298–311.
- Jones DL, Blancaflor EB, Kochian LV, Gilroy S (2006) Spatial coordination of aluminium uptake, production of reactive oxygen species, callose production and wall rigidification in maize roots. *Plant Cell Environ*, 29: 1309–1318.
- Jones JB (2003) Plant mineral nutrition. In: *Agronomic handbook: Management of crops, soils and their fertility*, 325.
- Kastori R, Petrovic N (1989) Effect of boron on nitrate reductase activity in young sunflower plants. *Journal of Plant Nutrition*, 12: 621–632.
- Karthika KS, Sathyaseelan N (2019) Aluminium toxicity in soil and plants. *Arit Dhara*, 2(1).
- Kinraide TB (1998) Three mechanisms for the calcium alleviation of mineral toxicities. *Plant Physiol*, 118: 513–520.
- Kobayashi M, Match T, Azuma J (1996) Two chains of rhamnogalacturonan II are cross-linked by borate-diol ester bonds in higher plant cell walls. *Plant Physiol* 110: 1017–1020.
- Kochian LV (1995) Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 46: 237–260.
- Kochian LV, Pineros MA, Hoekenga OA (2005) The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminum resistance and toxicity. *Plant Soil*, 274(2005): 175–195.
- Kochian LV, Piñeros MA, Liu J, Magalhaes JV (2015) Plant Adaptation to Acid Soils: The Molecular Basis for Crop Aluminum Resistance. *Annual Review of Plant Biology*, 66(2015);571–598.
- Kollmeier M, Felle HH, Horst WJ (2000) Genotypical differences in aluminum resistance of maize are expressed in the distal part of the transition zone. Is reduced basipetal auxin flow involved in inhibition of root elongation by aluminum? *Plant Physiol* 122: 945–956.
- Landi M, Margaritopoulou T, Papadakis IE, Araniti F (2019) Boron toxicity in higher plants: an update. *Planta* 250: 1011–1032.

- Li M, Zhao Z, Zhang Z, Zhang W, Zhou J, Xu F, Liu X (2017c) Effect of boron deficiency on anatomical structure and chemical composition of petioles and photosynthesis of leaves in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Sci. Rep.* 7: 4420.
- Li X, Li Y, Mai J, Tao L, Qu M, Liu J, Shen R, Xu G, Feng Y, Xiao H, Wu L, Shi L, Guo S, Liang J, Zhu Y, He Y, Baluška F, Shabala S, Yu M (2018) Boron Alleviates Aluminum Toxicity by Promoting Root Alkalization in Transition Zone via Polar Auxin Transport. *Plant Physiology* 177: 1254–1266.
- Li X, Li Y, Qu M, Xiao H, Feng Y, Liu J, Wu L, Yu M (2016) Cell wall pectin and its methyl esterification in transition zone determine Al resistance in cultivars of pea (*Pisum sativum*). *Front Plant Sci* 7: 1-39.
- Li XW, Liu JY, Fang J, Tao L, Shen RF, Li YL, Xiao HD, Feng YM, Wen HX, Guan JH (2017a) Boron supply enhances aluminum tolerance in root border cells of pea (*Pisum sativum*) by interacting with cell wall pectins. *Front Plant Science* 8: 742.
- Li Y, Huang J, Song X, Zhang Z, Jiang Y, Zhu Y, Zhao H, Ni D (2017b) An RNASeq transcriptome analysis revealing novel insights into aluminum tolerance and accumulation in tea plant. *Planta* 246: 91–103.
- Lichtenthaler HK, Buschmann C, Knapp M (2005) How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio R_{Fd} of leaves with the PAM fluorometer. *Photosynthetica* 43: 379-393.
- Ll  s P, Schlicht M, Pavlovkin J, Lichtscheidl I, Baluška F, Ove  ka M (2006) Aluminium toxicity in plants: Internalization of aluminium into cells of the transition zone in *Arabidopsis* root apices related to changes in plasma membrane potential, endosomal behaviour, and nitric oxide production. *J Exp Bot* 57: 4201–4213.
- Loomis W, Durst R (1992) Chemistry and biology of boron. *Bio Factors* 3: 229–239.
- López-Lefebvre LR, Rivero RM, Garcia PC, Sanchez E, Ruiz JM, Romero L (2002) Boron effect on mineral nutrients of tobacco. *Journal of Plant Nutrition*, 25(3): 509-522.
- Ma JF, Chen ZC, Shen RF (2014) Molecular mechanisms of Al tolerance in gramineous plants. *Plant Soil* 381: 1-12.
- Mahboobi H, Yucel MO, Ktem HA (2002) Nitrate reductase e glutamate deshydrogenase atividades de cultivares resistentes e sens  veis de trigo e cevada sob toxicidade de boro. *Journal of Plant Nutrition*, 25, 1829-1837.
- Maia C, Almeida CF, Costa PMA, Melo Júnior JAG, Silveira G, Peternelli LA, Barbosa MHP, Bhering LL (2018) Phenotypic Plasticity of Sugarcane Genotypes under Aluminum Stress. *Journal of Experimental Agriculture International* 22: 1-11.
- Malhi SS, Raza M, Schoenau JJ, Mermut AR, Kutcher R, Johnston AM, Gill KS (2003) Feasibility of B fertilization for yield, seed quality, and B uptake of canola in north eastern Saskatchewan. *Canadian Journal of Soil Science*, 83: 99-108.

- Martello J M (2016) Boro em cana-de-açúcar cultivada em solução nutritiva. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 54 f.
- Matoh T, Kobayashi M (1998) Boron and calcium, essential inorganic constituents of pectic polysaccharides in higher plant cell walls. *J Plant Res* 111: 179–190.S
- Matsumoto H, Motoda H (2012) Aluminum toxicity recovery processes in root apices. Possible association with oxidative stress. *Plant Sci*, 185–186: 1–8.
- Moraghan JT, Mascagni HJ (1991) Environmental and soil factors affecting micronutrient deficiencies and toxicities. In: *Micronutrients in agriculture*, 371-425, R. J. Luxmoore (Ed.), Soil Sci. Soc. Am.
- Morita A, Yanagisawa O, Maeda S, Takatsu S, Ikka T (2011) Tea plant (*Camellia sinensis* L.) roots secrete oxalic acid and caffeine into medium containing aluminum. *Soil Sci. Plant Nutr.* 57:796–802.
- Niaz A, Ranjha AM, Rahmatullah, Hannan A, Waqas M (2007) Boron status of soils as affected by different soil characteristics–pH, CaCO₃, organic matter and clay contents. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 44: 428-435.
- Noble AD, Sumner ME (1988) Calcium and Al interactions and soybean growth in nutrient solutions. *Commun. Soil Sci. Plant Anal*, 19: 1119–1131.
- O'Neill MA, Warrenfeltz KK, Pellerin P, Doco T, Darvill AG, Albersheim P (1996) Rhamnogalacturonan-II: a pectic polysaccharide in the walls of growing plant cell, form a dimer that is covalently cross-linked by a borate ester: in vitro conditions for the formation and hydrolysis of the dimer. *Journal of Biological Chemistry*, 271:22923–22930.
- Oliveira MS (2012) Tolerância da variedade de cana de açúcar (*Saccharum* SSP.) á toxidez por alumínio em solução. 109 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Ambiente) - São Carlos: UFSCar.
- Orlando Filho J (1993) Calagem e adubação da cana-de-açúcar. In: CÂMARA, G.M.S.; Prado RM (2008) *Nutrição de plantas*. UNESP, São Paulo, 407 p.
- Panda SK, Baluska F (2009) Matsumoto, H Aluminum stress signaling in plants. *Plant signaling & behavior*, 4(7): 592–597.
- Panhwar QA, Naher UA, Radziah O, Shamshuddin J, Razi IM (2014) Bio-fertilizer, ground magnesium limestone and basalt applications may improve chemical properties of Malaysian acid sulfate soils and rice growth. *Pedosphere*, 24, 827–835.
- Panhwar QA, Naher UA, Radziah O, Shamshuddin J, Razi IM (2015) Eliminating aluminum toxicity in an acid sulfate soil for rice cultivation using plant growth promoting bacteria. *Molecules*, 20: 3628–3646.
- Pommerrenig B, Eggert K, Bienert GP (2019) Boron Deficiency Effects on Sugar, Ionome, and Phytohormone Profiles of Vascular and Non-Vascular Leaf Tissues of Common Plantain (*Plantago major* L.). *Int. J. Mol. Sci.* 20(16): 3882.

- Qian P, Sun R, Ali B, Gill RA, Xu L, Zhou W (2014) Effects of hydrogen sulfide on growth, antioxidative capacity, and ultrastructural changes in oilseed rape seedlings under aluminum toxicity. *J. Plant Growth Regul*, 33: 526–538.
- Rahman MA, Lee S, Ji HC, Kabir AH, Jones CS, Lee K (2018) Importance of Mineral Nutrition for Mitigating Aluminum Toxicity in Plants on Acidic Soils: Current Status and Opportunities. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10): 3073.
- Raij B, Cantarella H, Quaggio JÁ, Furlani AMC (1996) Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. (Boletim 100) 2 ed. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundação IAC, 285.
- Raij BV (2011) Melhorando o ambiente radicular em subsuperfície. *Informações agronômicas* Nº 135. 10 p.
- Ramon AM, Ruiz RO, Garate A (1989) In vitro stabilization and distribution of nitrate reductase in tomato plants: incidence of boron deficiency. *Journal of Plant Physiology*, 135, 126–128.
- Rauser WE, Samarakoon AB (1980) Vein loading in seedlings of *Phaseolus vulgaris* exposed to excess cobalt, nickel, and zinc. *Plant Physiol*, 65: 578–583.
- Raza M, Mermut AR, Schoenau JJ, Malhi SS (2002) Boron fractionation in some Saskatchewan soils. *Canadian Journal of Soil Science*, 82: 173-179.
- Reid R (2014) Understanding the boron transport network in plants. *Plant Soil*, 385(1–2):1–13.
- Reid RJ, Hayes JE, Post A, Stangoulis JCR, Graham RD (2004) A critical analysis of the causes of boron toxicity in plants. *Plant Cell Environ*, 27(11):1405–1414.
- Rerkasem B, Jamjod S (2004) Boron deficiency in wheat: A review. *Field Crop. Res*, 89: 173–186.
- Riaz M, Wu X, Yan L, Hussain S, Aziz O, Shah A, Jiang C (2018b) Boron supply alleviates Al-induced inhibition of root elongation and physiological characteristics in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Journal of Plant Interactions* 13: 270-276.
- Riaz M, Yan L, Wu X, Hussain S, Aziz O, Wang Y, Imran M, Jiang C (2018a) Boron alleviates the aluminum toxicity in trifoliolate orange by regulating antioxidant defense system and reducing root cell injury. *Journal of Environmental Management* 208: 149-158.
- Ruiz JM, Baghour M, Bretones G, Belahir A, Romero L (1998) Nitrogen metabolism in tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L.): role of boron as a possible regulatory factor. *International Journal of Plant Sciences*, 159(1): 121–126.
- Ruiz JM, Rivero RM, Romero L (2006) Boron increases synthesis of glutathione in sunflower plants subjected to aluminum stress. *Plant Soil* 279: 25-30.
- Sade H, Meriga B, Surapu V, Gadi J, Sunita MSL, Suravajhala P et al. (2016) Toxicity and tolerance of aluminium in plants: tailoring plants to suit to acid soils. *Biometals*, 29: 187–210.

- Shafiq M, Ranjha AM, Yaseen M, Mehdi SM, Hannan A (2008) Comparison of freundlich and Langmuir adsorption equations for boron adsorption on calcareous soils. *Journal of Agricultural Research*, 46: 141-148.
- Shelp BJ (1993) Physiology and biochemistry of boron in plants. In *Boron and Its Role in Crop Production*; Gupta, U.C. Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 53–85.
- Shetty R, Vidya CSN, Prakash NB, Lux A, Vaculík M (2020) Aluminum toxicity in plants and its possible mitigation in acid soils by biochar: A review. *Science of The Total Environment*, 142744.
- Shen ZG, Liang YC, Shen K (1993) Effect of boron on the nitrate reductase-activity in oilseed rape plants. *Journal of Plant Nutrition*, 16: 1229–1239.
- Shorrocks VM (1997) The occurrence and correction of boron deficiency. *Plant Soil* 193: 121–148.
- Silva IR, Ferrufino A, Sanzonowicz C, Smyth TJ, Israel DW, Carter Júnior TE (2005) interactions between magnesium, calcium, and aluminum on soybean root elongation. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 29: 747-754.
- Silva IR, Smyth TJ, Israel DW, Raper CD, Rufty TW (2001) Magnesium ameliorates aluminum rhizotoxicity in soybean by increasing citric acid production and exudation by roots. *Plant Cell Physiol*, 42: 546–554.
- Silva S, Carnide OP, Lopes PM, Matos M, Pinto HG, Santos C (2010) Differential aluminium changes on nutrient accumulation and root differentiation in a sensitive vs. tolerant wheat. *Environmental and Experimental Botany* 68: 91-98.
- Simoës CC, Melo JO, Magalhaes JV, Guimaraes CT (2012) Genetic and molecular mechanisms of aluminum tolerance in plants. *Genet. Mol. Res*, 11(2012): 1949–1957.
- Snowball K, Robson AD (1982) Symptoms of Nutrient Deficiencies: Subterranean Clover and Wheat; Department of Soil Science and Plant Nutrition, University of Western Australia, 73.
- Sonmez O, Aydemir S, Kaya C (2009) Mitigation effects of mycorrhiza on boron toxicity in wheat (*Triticum durum*) plants. *N. Z. J. Crop Hort. Sci*, 37: 99–104.
- Sousa DM, Miranda LN, Oliveira SA (2007) Acidez do solo e sua correção. IN; Novais FR, Alvarez VH, Fontes RLF, Cantarutti RB, Neves JCL., ed. *Fertilidade do solo*. Viçosa: sociedade brasileira de ciência do solo 205-274.
- Sousa FBF, Cazetta JO, Nascimento SS (2018) The different response of sugarcane genotypes in multiple stress. *Ciência e agrotecnologia* 42: 527-539.
- Stass A, Kotur Z, Horst WJ (2007) Effect of boron on the expression of aluminum toxicity in *Phaseolus vulgaris*. *Physiol Plant* 131: 283-290.
- Stass AB, Klug Z, Cevic, Horst WJ (2005) Boron aluminum interaction in the root tip cell-wall. In: Li CJ, et al. (Eds). *Plant nutrition for food security. Human health and environmental protection*. Beijing: Tsinghua University Press 6922-6933.

- Surapu V, Ediga A, Meriga B (2014) Salicylic acid alleviates aluminum toxicity in tomato seedlings (*Lycopersicum esculentum* Mill.) through activation of antioxidant defense system and proline biosynthesis. *Adv Biosci Biotechnol* 5: 777–789.
- Tahara K, Hashida K, Ohara S, Kojima K, Shinohara K (2009) “Aluminum detoxifying compounds in roots of *Eucalyptus camaldulensis*,” in *Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium XVI* (Davis, CA: University of California).
- Takami C, Takenaka C, Tezuka T (2005) Mitigation of aluminum toxicity by calcium and magnesium in Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*). *Journal of Forest Research* 10: 9-14.
- Tan K, Keltjens WG (1990) Interaction between aluminium and phosphorus in sorghum plants. *Plant Soil*, 124: 25–32.
- Tanaka M, Fujiwara T (2008) Physiological roles and transport mechanisms of boron: perspectives from plants. *European Journal of Physiology*, 456: 671– 677.
- Tariq M, Mott CJB (2007) Effect of boron on the behavior of nutrients in soil-plant systems - A Review. *Asian Journal of Plant Sciences*, 6: 195-202.
- Teng W, Kang Y, Hou W, Hu H, Luo W, Wei J, Wang L, Zhang B (2018) Phosphorus application reduces aluminum toxicity in two *Eucalyptus* clones by increasing its accumulation in roots and decreasing its content in leaves. *PLoS ONE*, 13.
- Unica - União da indústria de cana-de-açúcar. Única data. São Paulo: 2017. Disponível em:< <http://www.unicadata.com.br/>>. Acesso em: 08 maio 2018.
- Unica- União da indústria da cana-de-açúcar (2018) Setor sucroenergético: Mapa de produção. Disponível em < <http://www.unica.com.br/mapa-da-producao/>>, acesso em 02 outubro de 2018.
- Ullrich WR (2002) Salinity and nitrogen nutrition. In: Lañuchli A., Lüttge U. (Eds), *Salinity: Environment Plants Molecules*, 229–248.
- Vale F, Araujo MAG, Vitti GC (2008) Avaliação do estado nutricional dos micronutrientes em áreas com cana-de-açúcar. In: FERTBIO. 2008, Londrina. Anais... Embrapa Soja: SBCS: IAPAR, UEL. 1. CD-ROM.
- Wang N, Yang C, Pan Z, Liu Y, Peng S (2015) Boron deficiency in woody plants: various responses and tolerance mechanisms. *Frontiers in Plant Science* 6: 1-14.
- Wang Y, Stas A, Horst WJ (2004) Apoplastic binding of aluminum is involved in silicon-induced amelioration of aluminum toxicity in maize. *Plant Physiol* 136: 3762–3770.
- Wear JI, Patterson RM (1962). Effect of soil pH and texture on the availability of water-soluble boron in the soil. *Soil Science Society of America Proceedings*, 26: 344-346.
- Wissemeier AH, Klotz F, Horst WJ (1987) Aluminium induced callose synthesis in roots of soybean (*Glycine max* L.). *J. Plant Physiol*, 129: 487–492.

- Wojcik P, Wojcik M, Klamkowski K (2008) Response of apple trees to boron fertilization under conditions of low soil boron availability. *Sci Hortic* 116: 58–64.
- Yan L, Riaz M, Liu J, Liu Y, Zeng Y, Jiang C (2019) Boron alters carboxyl group binding capacity and Al transport pathway to relieve Al toxicity. *BioRxiv* 12.12.874412.
- Yan L, Riaz M, Wu XW, Wang YH, Du CQ, Jiang CC (2018) Interaction of boron and aluminum on the physiological characteristics of rape (*Brassica napus*, L.) seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum* 40: 33-44.
- Yan X, Wu P, Ling H, Xu G, Xu F, Zhang Q (2006) Plant nutriomics in China: an overview. *Annals of Botany*, 98: 473–482.
- Yang JL, Zhu X, Zheng C, Zhang Y J and Zheng SJ (2011) Genotypic differences in Al resistance and the role of cell-wall pectin in Al exclusion from the root apex in *Fagopyrum tataricum*. *Ann Bot* 107: 371–378.
- Yang Y, Wang QL, Geng ML, Guo ZH, Zhao Z (2011) Rhizosphere pH differenceregulated by plasma membrane H⁺-ATPase is related do differential Al-tolerance of two wheat cultivars. *Plant Soil Environ.* 57 201–206.
- Yang YH, Gu HJ, Fan WY, Abdullahi BA (2004) Effects of boron on aluminum toxicity on seedlings of two soybean cultivars. *Water Air Soil Pollut* 154: 239-248.
- Yang G, Qua m GX, Li Y, Li X, Feng Y, Xiao H, He Y, Shabala S, Demidchik V, Liu J, Yu M (2022) pH-Dependent mitigation of aluminum toxicity in pea (*Pisum sativum*) roots by boron. *Plant Science*, 318: 111208.
- Yu M, Shen RF, Xiao HD, Xu MM, Wang HZ, et al. (2009) Boron alleviates aluminum toxicity in pea (*Pisum sativum*). *Plant Soil* 314: 87-98.
- Zhang B, Liu P, Yang YS, Xu GD (2007) Effect of Al in soil on photosynthesis and related morphological and physiological characteristics of two soybean genotypes. *Bot. Stud.* 48: 435–444.
- Zhang H, Jiang Z, Qin R, Zhang H, Zou J, Jiang W et al. (2014) Accumulation and cellular toxicity of aluminum in seedling of *Pinus massoniana*. *BMC Plant Biol*, 14(264).
- Zhang H, Tan ZQ, Hu LY, Wang SH, Luo JP, Jones RL (2010) Hydrogen sulfide alleviates aluminum toxicity in germinating wheat seedlings. *J. Integr. Plant Biol*, 52: 556–567.
- Zhang M, Ma Y, Horst WJ, Yang ZB (2016) Spatial-temporal analysis of polyethylene glycol-reduced aluminium accumulation and xyloglucan endotransglucosylase action in root tips of common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Ann. Bot.* 118 1–9.
- Zhao XQ, Shen RF (2018) Aluminum–Nitrogen Interactions in the Soil–Plant System. *Frontiers in Plant Science*, 9(807):1-15.
- Zheng SJ, Yang JL, He YF, Yu XH, Zhang L, You JF, Shen RF, Matsumoto H (2005) Immobilization of aluminum with phosphorus in roots is associated with high aluminum resistance in buckwheat. *Plant Physiol*, 138: 297–303.

- Zhou XX, Yang LT, Qi YP, Guo P, Chen LS (2015) Mechanisms on Boron-Induced Alleviation of Aluminum-Toxicity in *Citrus grandis* Seedlings at a Transcriptional Level Revealed by cDNA-AFLP Analysis. *Plos One* 10: 1-27.
- Zhu CQ, Cao XC, Zhu LF, Hu WJ, Hu AY, Abliz B, Bai ZG, Huang J, Liang QD, Sajid H (2019) Boron reduces cell wall aluminum content in rice (*Oryza sativa*) roots by decreasing H₂O₂ accumulation. *Plant Physiology and Biochemistry* 138: 80-90.
- Zhu MY, Pan JW, Wang LL, Gu Q, Huang CY (2003). Mutation induced enhancement of Al tolerance in barley cell lines. *Plant Science* 164: 17 -23.