

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO SINÉRGICO DO ESTRESSE HÍDRICO E DA
TOXIDEZ DE ALUMÍNIO NO ACÚMULO DE PROLINA EM
Cajanus cajan (L.) MILLSP. CULTIVADO EM HIDROPONIA**

Adão Marin
Engenheiro Agrônomo

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL
Junho de 2008

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO SINÉRGICO DO ESTRESSE HÍDRICO E DA
TOXIDEZ DE ALUMÍNIO NO ACÚMULO DE PROLINA EM
Cajanus cajan (L.) MILLSP. CULTIVADO EM HIDROPONIA**

Adão Marin

Orientadora: Profa. Dra. Durvalina Maria Mathias dos Santos

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias -
Unesp, Câmpus de Jaboticabal,
como parte das exigências para a
obtenção do Título de Doutor em
Agronomia (Produção Vegetal).

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL
Junho de 2008

Marin, Adão
M337e Efeito sinérgico do estresse hídrico e da toxidez de alumínio no
acúmulo de prolina em *Cajanus cajan* (L.) Millsp. cultivado em
hidroponia / Adão Marin. – – Jaboticabal, 2008
xiv, 107 f. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2008
Orientador: Durvalina Maria Mathias dos Santos
Banca examinadora: Ricardo Andrade Reis, David Ariovaldo
Banzatto, Ana Regina Pimentel de Almeida, José Antonio Proença
Vieira de Moraes
Bibliografia

1. *Cajanus cajan* (L.) Millsp. - aminoácidos. 2. Feijão guandu -
estresse abiótico. 3 Forrageira. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 633.3

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da
Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de
Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ADÃO MARIN – Nasceu em São Caetano do Sul, São Paulo em 25 de dezembro de 1975, completou o segundo grau em 1993, na Escola Estadual de Primeiro e Segundo Grau Profa. Branca de Castro do Canto e Mello e ingressou em 1996 no curso de graduação em Agronomia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal. Durante a graduação estagiou no Laboratório de Fisiologia Vegetal, no período de agosto de 1997 a fevereiro de 1999, onde também atuou, durante o primeiro semestre de 1999, como monitor na disciplina de Fisiologia Vegetal. Também foi bolsista do PIBIC/CNPq durante o período de setembro de 1999 a julho de 2000, quando realizou seu trabalho para conclusão de curso intitulado “Efeito da deficiência hídrica e da toxidez do alumínio na germinação de sementes e no crescimento inicial do guandu cv. IAC Fava Larga” sob orientação da Profa. Dra. Durvalina Maria Mathias dos Santos, o qual foi aprovado com nota máxima e agraciado com o Prêmio Agronomia. Ainda durante a graduação participou, em janeiro de 1999, da equipe UNESP - Programa Universidade Solidária, no município de Brejão, PE, com atuação na sua área de atividade, merecedora de créditos de distinção e louvor. Em março de 2001 ingressou no curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, no qual apresentou a Dissertação intitulada “Influência associada do estresse hídrico e do alumínio na germinação e crescimento inicial do guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.)”. Ainda durante o mestrado foi bolsista DS/CAPES e realizou estágio de docência na disciplina de Fisiologia Vegetal durante o primeiro semestre de 2002, sob orientação da Profa. Dra. Durvalina Maria Mathias dos Santos.

Senhor tu me sondas, e me conheces.
Tu conheces o meu sentar e o meu levantar; de
longe entendes o meu pensamento.
Esquadrinhas o meu andar, e o meu deitar, e
conheces todos meus caminhos.
Sem que haja uma palavra na minha língua, eis que,
ó Senhor, tudo conheces.
Tu me cercaste em volta, e puseste sobre mim a tua
mão.
Eu te louvarei, porque de um modo tão admirável
e maravilhoso fui formado; maravilhosas são as
tuas obras, e a minha alma o sabe muito bem.

Salmos 139, vers.: 1 – 5 e 14

À Deus, o meu Criador, de quem veio a sabedoria,
força e ânimo para completar mais esta etapa.

À minha querida esposa Kennya, companheira sempre
presente, que com entusiasmo, carinho e apoio me
auxiliou muito nesta conquista.

Aos meus pais, Dionísio e Maria do Carmo, que em
tudo são exemplos de conduta e o motivo da
minha caminhada sempre adiante.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À professora Durvalina Maria Mathias dos Santos, pela determinante participação em todas as etapas de minha carreira acadêmica, desde a graduação até a conclusão deste doutorado, sendo importante tanto como orientadora quanto amiga, uma exemplar profissional, cujas atitudes serviram de alicerce para o meu aprendizado.

Ao professor David Arioaldo Banzatto pelas importantes orientações nas análises estatísticas.

Aos professores Dr. Ricardo Andrade Reis, Dr. David Arioaldo Banzatto, Dr. José Antonio Proença Vieira de Moraes e a pesquisadora Dra. Ana Regina Pimentel de Almeida pela disponibilidade de participar da banca examinadora visando o aperfeiçoamento desta tese e de minha formação.

À técnica do laboratório de Fisiologia Vegetal Sônia Maria Raymundo Carregari, pela preciosa amizade, auxílio e grande dedicação durante estes anos.

À professora Izabel Cristina Leite pelo agradável convívio durante estes anos.

Aos funcionários Aldo Antonio de Souza e Maria Lucina de Oliveira Moraes da Silva, pela prazerosa convivência neste período.

Aos amigos: Adriano, Andressa, Eric, Fabiana, Felipe, Gisele, Gustavo, Juliana, Kazuo, Leonardo, Leticia, Marco, Samira, William, pela agradável convivência durante estes anos, e também à Pastora Cleuza e ao casal Aline e Edgard e amigos da Comunidade Coração Adorador, pela companhia e grande auxílio nas dificuldades.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Campus de Jaboticabal e ao Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária pelo auxílio e utilização de suas dependências para realização deste trabalho.

Ao Conselho Nacional Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo (proc.140320/2005-9).

SUMÁRIO

Página

LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	xi
RESUMO.....	xv
SUMMARY	xvi
I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO DE LITERATURA	3
1. Estresse hídrico	3
2. Toxidez do alumínio	5
3. Ajustamento osmótico	9
3.1. Prolina livre	11
4. <i>Cajanus cajan</i> (L.) Millsp. - Guandu	14
4.1. Crescimento inicial	17
4.2. Estresse hídrico	18
4.3. Toxidez do alumínio	19
4.4. Estresse hídrico e toxidez do alumínio	20
4.5. Teores de prolina livre	20
III. MATERIAL E MÉTODOS	22
1. Material botânico	22
IAPAR 43-Aratã	22
IAC Fava Larga	22
2. Montagem e condução experimental	23
3. Avaliações fisiológicas	27
3.1. Parte aérea	27
3.1.1. Teores de prolina livre nas folhas	29
3.2. Sistema radicular	29
4. Tratamento estatístico	30

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
V. CONCLUSÕES	74
VI. REFERÊNCIAS	75
APÊNDICE A – Metodologia preliminar	99
APÊNDICE B – Tabelas complementares	102

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1. Composição química da solução nutritiva de Clark.	25
Tabela 2. Análises de variância de altura (cm), massa fresca de folhas (mg), massa seca de caules (mg), área foliar (dm ²), teores de prolina livre nas folhas (μmol g ⁻¹ de Massa Fresca) e densidade de raízes (mm cm ⁻³ de Solução Nutritiva) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.	33
Tabela 3. Regressão polinomial da altura (cm) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.	34
Tabela 4. Regressão polinomial da massa seca de caules (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob estresse hídrico (H), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.	37
Tabela 5. Regressão polinomial dos teores de prolina livre nas folhas (μmol g ⁻¹ de Massa Fresca) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob estresse hídrico (H), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.	39
Tabela 6. Regressão polinomial da massa fresca de folhas (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.	43

- Tabela 7.** Regressão polinomial dos teores de prolina livre nas folhas ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de Massa Fresca) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.45
- Tabela 8.** Regressão polinomial da massa fresca de folhas (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.49 - 50
- Tabela 9.** Regressão polinomial da área foliar (dm^2) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.53 - 54
- Tabela 10.** Regressão polinomial da massa seca de caules (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.57 - 58
- Tabela 11.** Regressão polinomial dos teores de prolina livre nas folhas ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de Massa Fresca) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.....61 - 62
- Tabela 12.** Regressão polinomial da densidade de raízes (mm cm^{-3} de solução nutritiva) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do

estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.	66 - 67
--	---------

Tabela 13. Análise multivariada de componentes principais para massa fresca de folhas (mg), massa seca de caules (mg), área foliar (dm ²) e teores de prolina livre nas folhas (μmol.g ⁻¹ M.F.) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.	71
--	----

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1. Hidratação do alumínio e formação do octaedro. Adaptado de KOHLMEYER (2007).	6
Figura 2. Distribuição relativa das espécies de alumínio na solução do solo. Fonte: CAMBRI (2004).	7
Figura 3. Via metabólica principal (A) e alternativa (B) de biossíntese de prolina em plantas. Fonte: DELAUNEY & VERMA (1993).	12
Figura 4. Compartimentos celulares envolvidos no metabolismo de prolina em plantas. Adaptado de Díaz et al. (1999) por MOLINARI (2006).	13
Figura 5. Transplântio da planta jovem de guandu para a solução nutritiva com as concentrações de alumínio. A. Disco de isopor com a planta jovem inserida. B. Montagem no frasco SNAP CAP com capacidade de 190 mL.	26
Figura 6. Altura (cm) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.	35
Figura 7. Massa seca de caules (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAC Fava Larga (C2), sob estresse hídrico (H), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.	38
Figura 8. Teores de prolina livre ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de Massa Fresca) nas folhas de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob estresse hídrico (H), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006. ¹ Dados transformados em $\ln(x+1)$	40

- Figura 9.** Massa fresca de folhas (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAC Fava Larga (C2), sob toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.44
- Figura 10.** Teores de prolina livre ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de Massa Fresca) nas folhas de plantas jovens de guandu, cv. IAC Fava Larga (C2) sob toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006. ¹Dados transformados em $\ln(x+1)$46
- Figura 11.** Massa fresca de folhas (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Potenciais osmóticos dentro das concentrações de 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 mmol dm^{-3} de alumínio. Jaboticabal, SP. 2005-2006.51
- Figura 12.** Massa fresca de folhas (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Concentrações de alumínio dentro do potencial osmótico de -0,006 MPa. Jaboticabal, SP. 2005-2006.52
- Figura 13.** Área foliar (dm^2) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Potenciais osmóticos dentro das concentrações de 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 mmol dm^{-3} de alumínio. Jaboticabal, SP. 2005-2006.55
- Figura 14.** Área foliar (dm^2) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10

dias. Concentrações de alumínio dentro do potencial osmótico de -0,006 MPa. Jaboticabal, SP. 2005-2006.56

Figura 15. Massa seca de caules (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Potenciais osmóticos dentro da concentração de 1,00 mmol dm⁻³ de alumínio. Jaboticabal, SP. 2005-2006.59

Figura 16. Massa seca de caules (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Concentrações de alumínio dentro dos potenciais osmóticos de -0,008 e -0,010 MPa. Jaboticabal, SP. 2005-2006.60

Figura 17. Teores de prolina livre (µmol.g⁻¹ de Massa Fresca) nas folhas de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Potenciais osmóticos dentro das concentrações de 0,00; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 mmol dm⁻³ de alumínio. Jaboticabal, SP. 2005-2006. ¹Dados transformados em ln (x+1).63

Figura 18. Teores de prolina livre (µmol.g⁻¹ de Massa Fresca) nas folhas de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Concentrações de alumínio dentro do potencial osmótico de -0,004 MPa. Jaboticabal, SP. 2005-2006. ¹Dados transformados em ln (x+1).64

- Figura 19.** Densidade de raízes (mm cm^{-3} S.N.) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.
 $^1\text{mm cm}^{-3}$ S.N. = mm cm^{-3} de Solução Nutritiva de Clark.68
- Figura 20.** Dendrograma da análise de agrupamento para massa fresca de folhas (mg), massa seca de caules (mg), área foliar (dm^2) e teores de prolina livre nas folhas ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ M.F.) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.70
- Figura 21.** Distribuição das cultivares IAPAR 43-Aratã ($\blacktriangle$) e IAC Fava Larga (∇), nos componentes principais 1 e 2, sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006. CP1 = 74,00% (porcentagem acumulada no CP1, *vide* Tabela 13), CP2 = 21,42% (porcentagem acumulada no CP2 subtraída a porcentagem acumulada no CP1 ($95,42-74,00=21,42\%$, *vide* Tabela 13).72

EFEITO SINÉRGICO DO ESTRESSE HÍDRICO E DA TOXIDEZ DE ALUMÍNIO NO ACÚMULO DE PROLINA EM *Cajanus cajan* (L.) MILLSP CULTIVADO EM HIDROPONIA

RESUMO – O objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito de interação do estresse hídrico e da toxidez do alumínio no crescimento inicial e teores de prolina livre em duas cultivares de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, cultivadas em hidroponia. As plantas jovens foram submetidas aos estresses em solução nutritiva (pH 3,8), nos potenciais osmóticos de 0,000; -0,004; -0,006; -0,008 e -0,010 MPa com 0,00; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 mmol Al³⁺ dm⁻³. O experimento foi conduzido em sala de crescimento sob luminária com irradiância média de 190 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25°C $\pm$ 1°C. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2x5x5, com quatro repetições. Os dados foram submetidos às análises de regressão polinomial, agrupamento e componentes principais. Pelos resultados obtidos verifica-se que, a deficiência hídrica causa redução do crescimento da parte aérea enquanto a toxidez do alumínio provoca diminuição do crescimento radicular. Houve aumento nos teores de prolina livre nas cultivares sob deficiência hídrica e apenas na cv. IAC Fava Larga sob toxidez do alumínio. A análise multivariada mostrou alta correlação no crescimento e no acúmulo de prolina na cv. IAC Fava Larga, evidenciando provável tolerância aos estresses associados.

Palavras-chave: acidez, aminoácido, estresse abiótico, forrageira

SINERGIC EFFECT OF WATER STRESS AND ALUMINUM TOXICITY ON THE ACCUMULATE OF PROLINE IN *Cajanus cajan* (L.) MILLSP CULTIVATED IN HIDROPONICS

SUMMARY – The objective of the present work was to study the interaction effect of water stress and aluminum toxicity on the initial growth and free proline contents in two cultivars of pigeonpea cv. IAPAR 43-Aratã and IAC Fava Larga cultivated in hydroponics. The seedlings were subjected to stresses in nutritive solution (pH 3.8), osmotic potentials 0.000; -0.004; -0.006; -0.008 and -0.010 MPa with 0.00; 0.25; 0.50; 0.75 and 1.00 mmol Al³⁺ dm⁻³. The experiment was carried out in a plant growth room under a luminary unit of average irradiance 190 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 12-hour photoperiod and 25°C $\pm$ 1°C temperature. A completely randomized experimental design in factorial array 2x5x5 with four replications was used. Data were submitted to polynomial regression, cluster and main components analysis. According to the results it was verified that water stress causes growth reduction of aerial part whereas aluminum toxicity provokes radicular growth reduction. There was increase of the free proline contents in cultivars under water stress and only in cv. IAC Fava Larga under aluminum toxicity. Multivariate analysis showed high correlation in growth and accumulation of proline for the cv. IAC Fava Larga evidencing probable tolerance to associated stresses.

Keywords: Abiotic stress, acid, aminoacid, forage

I. INTRODUÇÃO

O estresse hídrico é considerado o mais importante fator ambiental porque a produtividade das plantas depende da quantidade disponível de água e da eficiência do seu uso pelo vegetal (BRAY et al., 2000; TAIZ & ZEIGER, 2004). Este estresse constitui um dos mais sérios problemas mundiais causando redução severa da produtividade e da qualidade dos produtos agrícolas (HONGBO et al., 2006), inclusive superando os efeitos de outros estresses ambientais (ABDUL JALEEL et al., 2007). Assim, atualmente um dos maiores desafios da agricultura está na manutenção da produtividade sob deficiência hídrica, sendo necessária a compreensão dos mecanismos de adaptação das plantas à seca (LIZANA et al., 2006; ABDUL JALEEL et al., 2007).

A toxidez do alumínio é considerada um dos principais fatores limitantes do crescimento vegetal em solos ácidos presentes nas regiões tropicais, principalmente, devido à inibição do crescimento radicular (GIANNAKOULA et al., 2008; GUO et al., 2007). O alumínio em níveis tóxicos está presente em 50% das áreas com potencial agrícola, considerando também que a acidez nos solos tem se agravado com o extensivo uso de fertilizantes amoniacais (ZHANG et al., 2007). No Brasil, a expansão do plantio direto nas áreas formadas por latossolos e argissolos, onde a aplicação do calcário para correção da acidez é realizada superficialmente, a importância de cultivares tolerantes à toxidez do alumínio aumenta devido ao maior tempo de resposta para adequação do pH e conseqüente diminuição da toxidez do alumínio (CAIRES et al., 2008).

A primeira resposta fisiológica típica das plantas aos estresses ambientais é o ajustamento osmótico que contribui para a tolerância ao estresse. O mecanismo de ajustamento osmótico é importante para evitar a diminuição do potencial hídrico celular mediante a biossíntese de solutos compatíveis intracelulares, os quais têm baixo peso molecular, acumulam-se em altas quantidades no vacúolo ou citosol, mantendo a turgidez e o volume celular, preservando a integridade de compostos e estruturas

celulares, fundamentais para o adequado metabolismo vegetal (ABDUL JALEEL et al., 2007). O aminoácido prolina presente em pequenas quantidades nas plantas, aproximadamente, 1 a 5 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de massa seca, é considerado osmólito-chave para o ajustamento osmótico de plantas sob estresse hídrico e toxidez do alumínio, acumulando-se nas células com função osmoprotetora (NOGUEIRA et al., 2001; MARIN, 2003; GIANNAKOULA et al., 2008), protegendo as membranas dos efeitos deletérios causados pelas espécies reativas de oxigênio (EROs), prevenindo a desnaturação de proteínas, preservando a estrutura de enzimas (SHARMA & DUBEY, 2005) e agindo como tampão para regular o potencial redox celular (ASHRAF & FOOLAD, 2007).

De modo geral, na literatura pertinente o acúmulo de prolina é considerado importante parâmetro de seleção de plantas tolerantes aos estresses (MANIVANNAN et al., 2007). Ainda, os estudos têm revelado que as respostas das plantas sob um único estresse não podem ser diretamente inferidas aos efeitos de distintos estresses que ocorrem conjuntamente, pois a associação de estresses provoca respostas singulares para a adaptação da planta. Desta forma, é necessário que os futuros programas de pesquisa enfatizem as respostas das plantas aos efeitos associados de estresses ambientais, aproximando-se mais da realidade dos ambientes agrícolas (MITTLER, 2006).

O guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.), leguminosa tropical adaptada às diferentes condições ambientais, é amplamente difundido no Brasil, sendo utilizado como adubo verde devido ao elevado conteúdo de nutrientes e alta capacidade de fixação simbiótica de nitrogênio, além de ser muito empregado na alimentação de ruminantes como forrageira (MOREL & PICCOLO, 1999).

O objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito de sinergismo do estresse hídrico e da toxidez do alumínio no crescimento inicial e nos teores de prolina livre em duas cultivares de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, cultivadas em hidroponia.

II. REVISÃO DE LITERATURA

1. Estresse hídrico

O estresse é considerado um fator externo que exerce influência desvantajosa sobre a planta e induz mudanças e respostas em todos os níveis funcionais do organismo. Em condições naturais e agricultáveis, as plantas estão freqüentemente expostas ao estresse ambiental, que limitará o desenvolvimento e as chances de sobrevivência (ALEXIEVA et al., 2003; TAIZ & ZEIGER, 2004). Dentre os estresses ambientais que reduzem o crescimento e o desenvolvimento vegetal, a deficiência hídrica é considerada a principal limitação para a produção agrícola (NEUMANN, 2008).

O estresse hídrico pode reduzir significativamente os rendimentos das lavouras e restringir as latitudes e os solos onde espécies comercialmente importantes podem ser cultivadas e ainda provoca alterações no comportamento vegetal cuja irreversibilidade depende do genótipo, da duração, da severidade e do estágio de desenvolvimento da planta (SANTOS & CARLESSO, 1998; NEPOMUCENO et al., 2001).

A deficiência hídrica pode induzir padrões similares de resposta que podem ser: osmorregulação, síntese de proteínas, acúmulo de solutos compatíveis, redução no crescimento, alterações nas propriedades das membranas celulares, inibição da fotossíntese, aumento da respiração, redução da produção de matéria seca, senescência e abscisão foliar (JONES & JONES, 1992; LARCHER, 2000).

No crescimento inicial e nos estádios mais tardios de crescimento das plantas, a diminuição da disponibilidade hídrica não limita apenas a dimensão das folhas individuais, mas também o número de folhas, porque diminui tanto o número como a taxa de crescimento dos ramos, provavelmente em decorrência do menor crescimento do caule (TAIZ & ZEIGER, 2004). A seca pode, entretanto, estimular as reações adaptativas que capacitam as plantas a sobreviverem em períodos prolongados de deficiência hídrica. As alterações nas taxas de crescimento ocorrem por meio de um controle coordenado de muitos outros processos importantes, como a síntese de

parede celular e de membranas, divisão celular, síntese protéica e de osmoprotetores (BURSSENS et al., 2000; LARCHER, 2000; TAIZ & ZEIGER, 2004).

O sistema radicular profundo e a elevada resistência estomática, são consideradas características para evidenciar uma maior resistência à seca (RODRIGUES, 1993). As raízes responsáveis pela absorção de água e nutrientes podem interagir, conforme o ambiente, com os fatores abióticos e bióticos que induzem às modificações do seu crescimento e desenvolvimento (TAIZ & ZEIGER, 2004). O estresse hídrico pode elevar a razão raiz/parte aérea das plantas, devido ao aumento na concentração do ácido abscísico (ABA), que possibilita a manutenção do crescimento do sistema radicular, permitindo maior exploração do solo e conseqüente absorção de água, enquanto inibe o crescimento da parte aérea. Ainda, os efeitos do ABA na proteção contra a deficiência hídrica são exercidos também devido à indução da expressão de genes que codificam a síntese de proteínas envolvidas no metabolismo da sacarose e da prolina, que atuam como osmoprotetores (KERBAUY, 2004).

À medida que a restrição hídrica no solo aumenta, o seu potencial matricial (ψ_m) torna-se cada vez menor, e as plantas por sua vez só conseguem absorver água quando o potencial hídrico celular é menor que o potencial hídrico do solo (TAIZ & ZEIGER, 2004).

As distintas situações de estresse hídrico, no solo, podem ser simuladas em condições de laboratório, utilizando-se o polietilenoglicol [$\text{HOCH}_2(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_n\text{CH}_2\text{OH}$] para obtenção de soluções aquosas de diferentes potenciais osmóticos (HARDEGREE & EMMERICH, 1994). O polietilenoglicol é um polímero químico de cadeia longa, alto peso molecular, inerte, não iônico, altamente solúvel em água, com capacidade de elevar a concentração osmótica das soluções nutritivas utilizadas nos experimentos em casa de vegetação ou sala de crescimento desde que exista o controle de temperatura para manutenção do potencial osmótico escolhido (MICHEL & KAUFMANN, 1973; NOGUEIRA & NAGAI, 1988).

2. Toxidez do alumínio

A constituição química da crosta superior, que em última análise representa a superfície onde o homem vive e exerce suas atividades como a agricultura, apresenta predomínio absoluto de oxigênio, silício e alumínio. De cada 100 átomos da crosta, aproximadamente, seis ou sete são de alumínio, 60 átomos são de oxigênio, 20 átomos são de silício e formam os óxidos e silicatos de alumínio que predominam no solo, ao redor de dois átomos são de ferro, cálcio, sódio, potássio e magnésio, todos estes oito elementos constituem cerca de 99% do total de átomos presentes na superfície terrestre (CREPANI et al., 2001).

Em solos tropicais e subtropicais úmidos, com altas precipitações pluviométricas, nutrientes solúveis como cálcio, magnésio e potássio são passíveis de lixiviação e quando a remoção desses cátions é maior que a taxa de liberação resultante do processo de intemperização da rocha de origem ocorre a diminuição do pH. A mineralização da matéria orgânica por microorganismos do solo resulta na liberação de nitrato e hidrogênio, ocasionando também a diminuição do pH. Em solos ácidos, o hidrogênio (H^+) atua sobre os minerais liberando íons alumínio, ou seja, os hexahidratos de alumínio $Al(H_2O)_6^{3+}$ denominados Al^{3+} (DRISCOLL & SCHECHER, 1988; WRIGHT, 1989; ŠČANČAR & MILAČIČ, 2006), que permanecem, predominantemente, retidos pelas cargas negativas das partículas de argila do solo, em equilíbrio com o Al^{3+} em solução e, portanto, a quantidade de Al^{3+} em solução aumenta com a acidez do solo (BOHNEN, 1995).

O alumínio trocável, Al^{3+} , por sua vez é um dos componentes mais importantes da acidez potencial do solo porque hidrata-se muito fortemente sendo coordenado por seis moléculas de água formando um octaedro e como a água é um dipolo elétrico, o hidrogênio (+) orienta-se externamente e o oxigênio (-) orienta-se para o alumínio (Figura 1). Com o aumento do pH, acima de cinco ocorre a hidrólise do $Al(H_2O)_6^{3+}$ liberando os íons H^+ da seguinte forma: $Al(H_2O)_6^{3+} \leftrightarrow [Al(H_2O)_{6-n}(OH)_n]^{3-n+} + nH^+$, e com aumento gradativo do pH esse processo de hidrólise resulta em uma série de

complexos Al-OH, determinando a solubilidade ou insolubilidade do alumínio (DRISCOLL & SCHECHER, 1988; RIBA, 2001, CAMBRI, 2004).

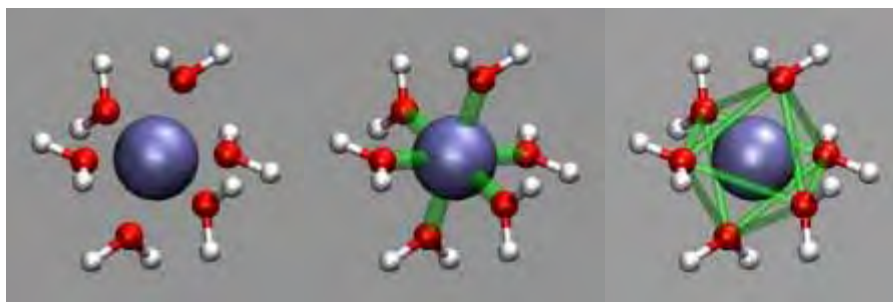


Figura 1. Hidratação do alumínio e formação do octaedro. Adaptado de KOHLMEYER (2008).

○ Hidrogênio ● Oxigênio ● Alumínio.

Em pH 3,0 encontra-se 95% do alumínio na forma $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$, altamente solúvel (Figura 2), em pH 7,0 o alumínio encontra-se 70% na forma de $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{OH})_3$ insolúvel (RIBA, 2001). Em decorrência desta complexidade química, a toxidez dos diferentes tipos de alumínio não está totalmente esclarecida. Entre as espécies químicas de Al^{3+} , os complexos AlSO_4^{2-} (KINRAIDE & PARKER, 1987), AlF^{2+} (WRIGHT, 1989) e o Al^{3+} complexado com compostos orgânicos (HUE et al., 1986) são considerados atóxicos ou com baixa toxidez, comprovadamente, a toxidez do alumínio é atribuída à forma do hexahidrato de alumínio $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ (KINRAIDE, 1991; GIANNAKOULA et al., 2008).

O processo natural de acidificação do solo é muitas vezes intensificado por práticas agrícolas, pela mineração e por práticas de descarte de resíduos (FOY et al., 1978; RAO et al., 1993). No que se refere aos efeitos da agricultura, pode-se salientar que resíduos de plantas, fertilizantes à base de nitrogênio e materiais nitrogenados de origem animal, como esterco, são fontes responsáveis pela acidificação do solo (LANGE et al., 2006). Todavia, os problemas de acidificação do solo podem ser corrigidos pela calagem, num processo que neutraliza os íons H^+ e Al^{3+} . Entretanto, como os corretivos da acidez são pouco solúveis, e os produtos da reação do calcário com o solo têm mobilidade limitada, a ação da calagem é restrita às camadas superficiais do solo (CAMBRI, 2004). Ainda no sistema de plantio direto, em que o

calcário é aplicado na superfície e sem incorporação, a toxidez do Al^{3+} no subsolo torna-se uma das principais causas da limitação à produção agrícola e funciona como uma barreira química para o crescimento das raízes (CAMBRI, 2004).

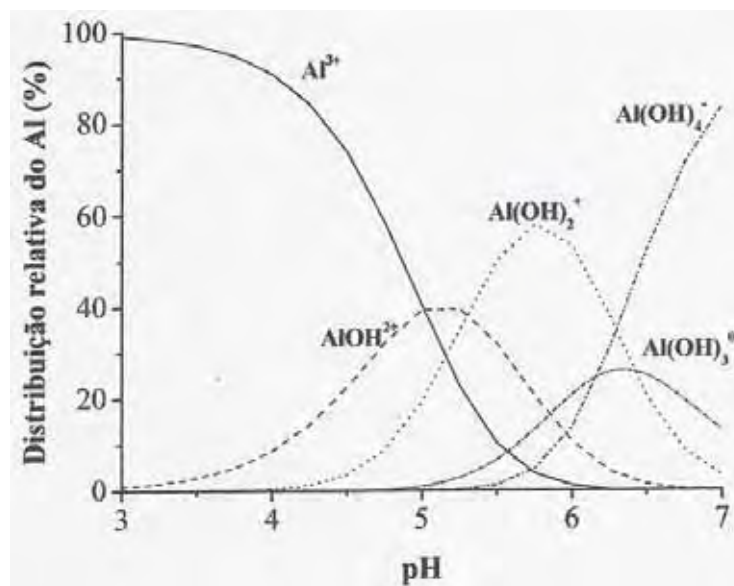


Figura 2. Distribuição relativa das espécies de alumínio na solução do solo. Fonte: CAMBRI (2004).

Embora o alumínio seja um metal sem atividade redox, ele é um poderoso pró-oxidante, pois é capaz de oxidação biológica tanto *in vitro* como *in vivo* (EXLEY, 2005). Devido a esta elevada reatividade do Al^{3+} , existem muitos alvos em potencial na célula vegetal para os efeitos tóxicos do Al^{3+} , como a parede celular, a superfície da membrana plasmática, o citoesqueleto e o núcleo celular e ainda pode ocorrer interação negativa do alumínio com a homeostase do Ca^{2+} citossólico, prejudicando o processo de sinalização celular (KOCHIAN et al., 2004).

De um modo geral, quantidades maiores que $0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ de alumínio podem causar efeito tóxico na planta, embora quantidades menores que esta na solução do solo também sejam tóxicas para espécies menos tolerantes a esse elemento, pois em

uma mesma espécie, pode-se encontrar cultivares e/ou variedades que evidenciem variados graus de tolerância à toxidez do alumínio (MALAVOLTA, 1980).

Nos solos ácidos, as plantas cultivadas, mesmo em condições adequadas de nutrientes, podem não atingir a taxa de crescimento e produtividade ótima quando teores elevados de alumínio estão presentes no solo, principalmente, devido às alterações estruturais no sistema radicular provocadas pelo alumínio que restringem a absorção desses nutrientes (FUENTE-MARTINÉZ & HERRERA-ESTRELLA, 1999; SIMPLÍCIO, 1999). Os efeitos prejudiciais do Al^{3+} sobre as plantas de diversas espécies, são observados tanto no sistema radicular quanto na parte aérea das plantas (FAHL et al., 1980; 1982), destacando-se os efeitos deletérios nas leguminosas forrageiras como estilosantes (RODRIGUES, 1979; SILVA, 1998), caupi (YANG & ZHANG, 1998; YANG et al., 1999) e guandu (MARIN, 2003).

A toxidez do alumínio é considerada um dos mais importantes problemas de toxidez de metais em solos ácidos com $\text{pH} \leq 5,5$ (KOCHIAN et al., 2004), por representar um fator limitante de crescimento para as plantas (DELHAIZE & RYAN, 1995; ILLÉS et al., 2006). Desde que, praticamente, 30 a 40% dos solos com potencial para agricultura no mundo são ácidos, a toxidez do alumínio representa um sério problema para a produção agrícola (KOCHIAN, 1995; GIANNAKOULA et al., 2008). Ainda a toxidez do Al^{3+} induz nas plantas sintomas de deficiência de nutrientes, tais como fósforo, cálcio, magnésio, potássio e molibdênio, devido à interferência do Al^{3+} nos processos de absorção, transporte e uso destes nutrientes, e as plantas se tornam mais suscetíveis ao estresse hídrico (SIVAGURU et al., 2000; BARCELÓ & POSCHENRIEDER, 2002).

Por ser um elemento de pouca mobilidade dentro da planta (EPSTEIN, 1974), os efeitos do alumínio são mais evidentes no sistema radicular onde provoca uma má formação da estrutura das raízes, induzindo ao sintoma inicial mais drástico da toxidez, a inibição do alongamento celular, e também induz engrossamento e a diminuição da permeabilidade das células radiculares (CAMBRAIA et al., 1990; SANDERSON et al., 1997; ILLÉS et al., 2006), com conseqüente inibição da divisão celular e redução da síntese de DNA (FAHL et al., 1980; TICE et al., 1992; KOCHIAN, 1995, RIBA, 2001).

Também, fisiologicamente, a toxidez do alumínio pode inibir as enzimas envolvidas na respiração e na translocação e absorção de nutrientes (BENNETT, 1996, ECHART & CAVALLI-MOLINA, 2001).

Os efeitos deletérios mais evidentes do alumínio ocorrem nos ápices das raízes (BENNET & BREEN, 1993), possivelmente porque a permeabilidade celular da raiz é maior nesta região que em outras regiões da raiz (Rasmussen, 1968 citado por PINTRO et al., 1995). De fato, as mudanças ultraestruturais nas células da coifa de raízes sob efeito de $0,05 \text{ mol m}^{-3}$ de alumínio, mostram aumento no número de vesículas e do retículo endoplasmático, além da menor espessura da parede celular e maior vacuolização nas células (BENNET et al., 1987; IKEDA & TADANO, 1993). Também as raízes que são danificadas pelo alumínio conseguem crescer apenas em um volume limitado de solo (WRIGHT, 1989; DELHAIZE & RYAN, 1995), visto que as plantas tolerantes ao alumínio conseguem desenvolver seu sistema radicular em profundidade e explorar maior volume de solo em busca de água e nutrientes (FURLANI et al., 1985; BARCELÓ & POSCHENRIEDER, 1990).

3. Ajustamento osmótico

Os vegetais quando estão sob estresses ambientais, se utilizam de mecanismos complexos que contribuem para tolerar curtos períodos sob tais condições adversas. Dentre estes mecanismos, destaca-se o ajustamento osmótico o qual capacita a célula a acumular substâncias denominadas “osmoprotetores” (BRAY et al., 2000), preservando a integridade das células para as atividades vitais do crescimento e desenvolvimento vegetal (MUNNS, 2002).

O acúmulo intracelular de solutos osmoticamente ativos em condições de reduzida disponibilidade hídrica é um importante mecanismo desenvolvido pelas plantas para tolerância ao estresse hídrico. Este mecanismo, denominado ajustamento osmótico, tem sido verificado em várias espécies, sendo considerado um dos mais

eficazes para manutenção da turgescência celular, permitindo, principalmente, a manutenção da abertura estomática e fotossíntese sob condições de baixo potencial hídrico no solo (VIEIRA JUNIOR et al., 2007).

O acúmulo intracelular de osmólitos compatíveis ou osmoprotetores resulta em um decréscimo no potencial osmótico e também na manutenção da absorção de água e pressão de turgor da célula, o que contribui para a continuidade dos processos fisiológicos, ainda que em níveis de atividade menores (MORGAN, 1984; HASEGAWA et al., 2000; VERSLUES & BRAY, 2004).

O ajustamento osmótico é importante para evitar a diminuição do potencial hídrico celular mediante a biossíntese de solutos compatíveis intracelulares, os quais têm baixo peso molecular, se acumulam em altas quantidades, no vacúolo ou no citosol, mantendo a turgidez e o volume celular, preservando a integridade de compostos e estruturas celulares, fundamentais para o adequado metabolismo vegetal (ABDUL JALEEL et al., 2007).

Entre os solutos compatíveis ou osmoprotetores destacam-se: a glicina betaína, o manitol, o pinitol e a prolina, que não causam efeitos negativos quando acumulados em altas concentrações na célula e, além do ajustamento osmótico, podem apresentar outros efeitos protetores (BRAY et al., 2000; SAKAMOTO & MURATA, 2000).

Para a identificação de um potencial osmoprotetor três informações são importantes: (i) ocorrência de aumento da concentração de uma molécula orgânica, em resposta à diminuição do potencial hídrico celular, (ii) apresentar propriedades físico-químicas características de um osmólito compatível quando estudado *in vitro* e (iii) ação fisiológica semelhante a outros osmólitos conhecidos que conferem proteção em espécies tolerantes (DRENNAN et al., 1993; INGRAM & BARTELS 1996)

Estes compostos compartilham a propriedade de permanecerem invariáveis em pH neutro e serem altamente solúveis em água (BALLANTYNE & CHAMBERLIN, 1994). Além disso, em altas concentrações, possuem pequeno ou nenhum efeito sobre a interação de macromoléculas solventes (YANCEY et al., 1982; LOW, 1985; TIMASHEFF, 1993; YANCEY, 2005), diferentemente dos íons inorgânicos que entram prontamente na esfera de hidratação de proteínas, favorecendo seu desdobramento.

A interação entre um osmoprotetor e uma proteína é geralmente desfavorável e por isso são, preferencialmente, excluídos da superfície da mesma, resultando na formação de uma camada de hidratação ao redor da proteína. Essa camada é constituída por moléculas de água altamente organizadas, que possuem uma mobilidade menor, pois não podem se mover tão livremente como as demais moléculas de água que constituem o solvente aquoso. A manutenção da organização das moléculas de água da camada de hidratação requer energia. E quanto mais extensa for a camada de hidratação, o que por sua vez está relacionado com o número de moléculas de água que a constituem, maior será o conteúdo de energia envolvido em sua manutenção (Timasheff & Arakawa, 1989 citados por VIANA et al., 2005). Estes compostos têm importância fundamental no ajustamento osmótico do citoplasma da planta durante a resposta ao estresse osmótico (WYN JONES et al., 1977).

O acúmulo de osmólitos em células de plantas resulta em um decréscimo no potencial osmótico e também na manutenção da absorção de água e pressão de turgor da célula, o que contribui para a manutenção dos processos fisiológicos, como abertura estomática, fotossíntese e crescimento da planta (MORGAN, 1984; LUDLOW & MUCHOW, 1990; BLUM, 1996).

3.1. Prolina livre

A L-prolina¹ é um dos 20 aminoácidos presentes nas proteínas de todos os organismos vivos. Aminoácidos são moléculas que contêm ambas porções amino (-NH₂) e um grupo funcional carboxil (-COOH). Diferentemente, a prolina contém uma porção imino (C=NH), um grupo funcional carboxil e um grupo imina secundário, tendo sido relatada como um importante osmoprotetor em muitas plantas (MOLINARI, 2006).

Este aminoácido, na sua forma pura, apresenta-se como uma substância incolor, altamente solúvel em água, medianamente solúvel em álcoois, razoavelmente em benzeno e acetona e insolúvel em outros compostos (MILNER-WHITE et al., 1992).

¹ L-Prolina: Molécula com conformação levógira, isto é, desvia a luz polarizada para a esquerda.

Em plantas, o aminoácido prolina é sintetizado (Figura 3) a partir de ácido-L-glutâmico via Δ^1 -pirrolina-5-carboxilato (P5C) por duas sucessivas reduções (Figura 3A), as quais são catalisadas pelas enzimas P5CS e P5CR (DELAUNEY & VERMA, 1993; HARE et al., 1999) ou alternativamente a partir de ornitina (Figura 3B) pela enzima ornitina- δ -aminotransferase (DELAUNEY & VERMA, 1993; LUTTS et al., 1999).

A enzima Δ^1 -pirrolina-5-carboxilato redutase (P5CR) foi a primeira a ser identificada e caracterizada em muitas espécies de plantas (DEUSCHLE et al., 2004). A localização no cloroplasto desta enzima foi verificada em ervilha (RAYAPATI et al., 1989), justificando o seu estudo na parte aérea das plantas.

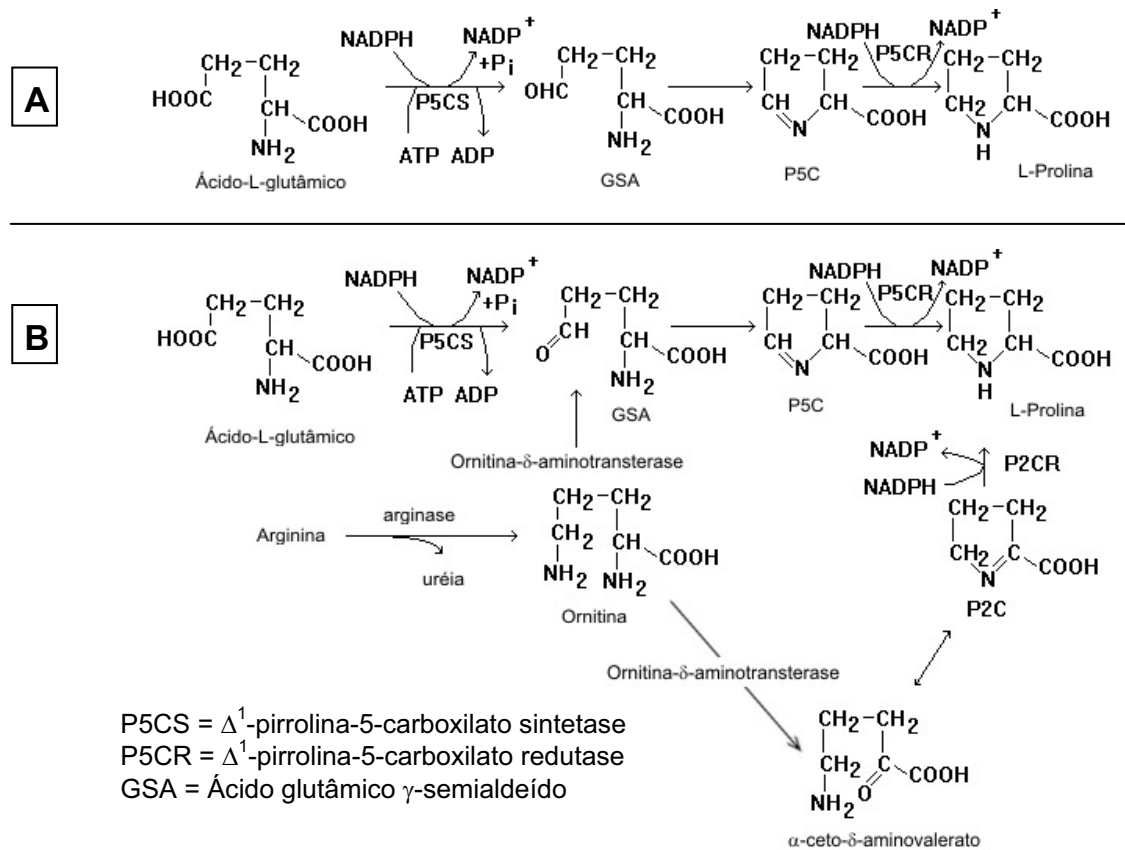


Figura 3. Via metabólica principal (A) e alternativa (B) de biossíntese de prolina em plantas.
Fonte: DELAUNEY & VERMA (1993).

A localização da enzima P5CR (Figura 4) indica que a prolina pode ser sintetizada no citosol e no estroma dos cloroplastos, sendo nesta organela a síntese dependente da atividade da glutamato sintase ferredoxina dependente, Fd-GOGAT (SZOKE et al., 1992).

A prolina em plantas constitui menos que 5% dos aminoácidos totais livres em condições normais, mas sob várias formas de estresse a concentração de prolina pode chegar a 80% do conjunto total de aminoácidos (MATYSIK et al., 2002; GUBIŠ et al., 2007). Em plantas sob deficiência hídrica o aumento nos teores de prolina ocorre inicialmente no citosol (KETCHUM et al., 1991; PAHLICH et al., 1993), entretanto o acúmulo desse aminoácido não ocorre somente nas plantas que se desenvolvem sob condições de estresse hídrico, mas também sob condições tóxicas de alumínio, possivelmente, por envolver mecanismos fisiológicos similares para atenuar estes dois tipos de estresses (ZAIFNEJAD et al., 1997)

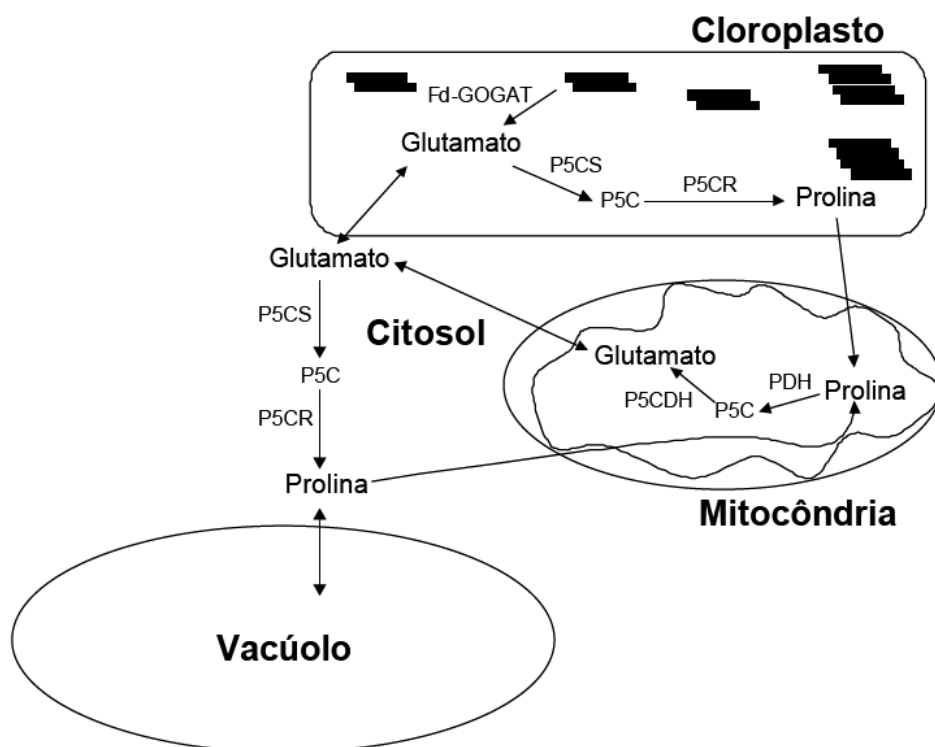


Figura 4. Compartimentos celulares envolvidos no metabolismo de prolina em plantas. Adaptado de Díaz et al. (1999) por MOLINARI (2006).

O aminoácido prolina é considerado osmólito-chave para o ajustamento osmótico de plantas sob estresses abióticos, atuando como soluto compatível acumulando-se nas células, com função osmoprotetora (MARIN, 2003; SHARMA & DUBEY, 2005; SHARMA & DIETZ, 2006; GIANNAKOULA et al., 2008), protegendo as membranas dos efeitos deletérios causados pelas espécies reativas de oxigênio (EROs) prevenindo a desnaturação de proteínas, preservando a estrutura de enzimas e (HOEKSTRA et al., 2001; SHARMA & DUBEY, 2005) agindo como tampão para regular o potencial redox celular (ALI et al., 2008; ASHRAF & FOOLAD, 2007) e inibindo a agregação de proteínas (SRINIVAS & BALASUBRAMANIAN, 1995).

De fato a prolina livre, em condições de estresse, atua nos mecanismos de minimização da acidez do citoplasma, mantendo as taxas de $\text{NADP}^+/\text{NADH}$ compatíveis com o metabolismo, permitindo a redução do estresse e ainda, o rápido catabolismo de prolina pode fornecer equivalentes redutores para manter a fotofosforilação oxidativa na mitocôndria, contribuindo na reparação de estruturas celulares danificadas pelo estresse (HARE & CRESS, 1997), além de que a oxidação de cada molécula de prolina pode gerar até 30 ATP (Atkinson, 1977 citado por MANI et al., 2002).

A associação entre o acúmulo de prolina livre e a tolerância ao estresse hídrico e toxidez do alumínio em diferentes genótipos, têm grande importância prática, pois fornece um critério simples de seleção, agilizando o processo de melhoramento genético de plantas (KARAMANOS, 1995; ZAIFNEJAD et al., 1997).

4. *Cajanus cajan* (L.) Millsp. - Guandu

O gênero *Cajanus* é freqüentemente encontrado nas regiões tropicais e subtropicais, notadamente em países da Ásia, África e América Latina, apresentando duas espécies, *Cajanus cajan* (L.) Millsp., distribuída pantropicamente, e *Cajanus kerstingii* Hrams., endêmica nas savanas da África ocidental, porém, de ocorrência rara (WUTKE, 1987; NENE et al., 1990).

O guandu, *Cajanus cajan* (L.) Millsp., pertence à família Fabaceae, subfamília Faboideae, tribo Phaseoleae, subtribo Cajaninae, com sinonímia de *Cajanus indicus* Spreng, *Cajanus flavus* D.C, *Cytipus cajanus* L. e *Cajanus cajan* (L.) Druce (WUTKE, 1987). Apesar do centro de origem do *Cajanus cajan* permanecer incerto, é provável que seja originário da Índia, onde é muito cultivado, ou nativo da África, de onde teria se deslocado para a Índia e, posteriormente, introduzido na América Central e do Sul, na época do descobrimento do continente pelos europeus (NENE et al., 1990). De um modo geral, as espécies da família Fabaceae (Leguminosae) possuem importante função, decorrente da associação simbiótica entre leguminosas e bactérias do gênero *Rhizobium*, resultando em melhorias ecológicas e econômicas, por causa do aumento da atividade microbiana, que conduz a uma maior fixação do nitrogênio atmosférico no solo, proporcionando significativos acréscimos na produtividade de culturas subseqüentes (DAKORA, 2003; LODWIG & POOLE, 2003).

O guandu é uma leguminosa arbustiva, anual ou perene de vida curta, crescendo normalmente até quatro metros de altura (NENE et al., 1990; COSTA et al., 2001). Esta espécie é considerada cultura de subsistência nos trópicos e sub-trópicos, sendo capaz de tolerar a seca durante os períodos de estiagem (BEGUM & PRODHAN, 2003). A característica que o guandu apresenta de crescer em períodos adversos, que limitam o crescimento de outras forrageiras, constitui-se em importante alternativa para a provisão de alimento de alta qualidade e redução de custos com colheita e armazenamento de forragem no período da entressafra (RAO et al., 2002).

Os países asiáticos são os maiores produtores mundiais de guandu, destacando-se a Índia com aproximadamente 90% da produção mundial (NENE et al., 1990). No Brasil, trata-se de uma espécie amplamente difundida em pequenos estabelecimentos rurais, oferecendo a possibilidade tanto de consumo dos grãos como de comercialização em mercados locais; também, é uma planta adequada para integrar sistemas de produção de hortaliças com base agroecológica, devido à incorporação da biomassa proveniente de sua poda no solo (ALVES et al., 2004, AZEVEDO et al., 2007).

As plantas forrageiras ocupam uma área correspondente a $\frac{3}{4}$ da área agrícola nacional (MARTHA JÚNIOR & CORSI, 2001), constituindo a principal forma de alimentação na pecuária brasileira, sendo o Brasil, atualmente, o país com maior rebanho bovino comercial do planeta (BATALHA, 2003). Considerando este aspecto, como forrageira, o guandu é utilizado para silagem, em pastejo direto no período de seca e para a formação de bancos de proteína (ALCÂNTARA & BUFARAH, 1988).

Por ser espécie rústica, atualmente tem sido também empregado em programas de recuperação de áreas degradadas, participando de projetos de reflorestamento de áreas com voçorocas, implantação de cordões de vegetação permanente e/ou paliçadas em regiões com princípios de erosão (COAN et al., 2004). O guandu apresenta valores satisfatórios em termos de cobertura. Quanto à massa seca, a estimativa de produção por hectare é expressiva devido, provavelmente, devido ao fato desta espécie ser arbustiva, apresentando maior porcentagem de tecido lenhoso. Esta característica pode ser vantajosa em áreas intensamente compactadas, onde não há disponibilidade de matéria orgânica na superfície do solo. A presença do material lenhoso proporciona maior resistência física ao escoamento superficial da água, minimizando os processos erosivos (LEME et al., 2005).

O guandu promove maior fertilidade dos solos, seja pela incorporação da matéria orgânica com elevados teores de nitrogênio ou pela fixação simbiótica nos solos. Também, possui sistema radicular profundo e ramificado que, além de torná-lo capaz de resistir ao estresse hídrico, possibilita-o romper camadas adensadas de solos, como “pé de arado”, sendo chamado de arado biológico (NENE et al., 1990).

Verificou-se após um ano de cultivo do guandu o acúmulo aproximado de 190 a 600 kg de nitrogênio por hectare, resultante da fixação simbiótica, respectivamente, por cultivares de porte baixo e arbóreo (BONAMIGO, 1999), ainda, como adubo verde a incorporação do guandu no solo corresponde em média a 141,9 kg ha⁻¹ de N; 10,5 kg ha⁻¹ de P₂O₅; 62,2 kg ha⁻¹ de K₂O; 25,3 kg ha⁻¹ de Ca; 10,5 kg ha⁻¹ de Mg e 8,8 kg ha⁻¹ de S (CACERES & ALCARDE, 1995).

Devido à amplitude de adaptação, o guandu, consiste em importante fonte de proteína em muitos países da África, Ásia e nas regiões Norte e Nordeste do Brasil,

sendo freqüentemente citado como espécie de múltiplo uso por sua tolerância a condições adversas, como o estresse hídrico causado por longos períodos de estiagem e a toxidez do alumínio em solos de baixa fertilidade (VILELA, 1983; PROVAZI et al., 2007). Também, como a maioria das cadeias produtivas de carne e leite do Brasil, está localizada em áreas cuja ocorrência simultânea de estresse hídrico e de toxidez do alumínio são freqüentes, uma estratégia para o aumento da eficiência produtiva é a utilização de plantas forrageiras adaptadas a essas condições, podendo o guandu ser considerado uma cultura de importante potencial sócio-econômico para essas regiões (PROVAZI et al., 2007).

4.1. Crescimento inicial

O conhecimento da taxa de emergência e do crescimento das plantas jovens é um fator importante para viabilizar o estabelecimento de associações, inclusive de gramíneas e leguminosas (HAYNES, 1980).

Na literatura, de um modo geral, encontram-se referências para o guandu quando cultivado em clima temperado. O vigoroso crescimento do guandu sob tais condições é indicado pelos altos índices de área foliar (10 a 12) e pelas elevadas taxas de crescimento ($40 \text{ a } 60 \text{ g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$). Também, o crescimento de várias cultivares de guandu pode ser influenciado pela semeadura em diferentes épocas, pois ocorre maior variação do índice de área foliar nos estádios de crescimento mais tardios do que nos estádios iniciais de crescimento (BALAKRISHNAN & NATARAJARATNAM, 1989), provavelmente devido ao aumento da quantidade de nutrientes disponíveis no solo (PUSTE & JANA, 1988), induzindo a nítidas diferenças fisiológicas entre as cultivares (BALASUBRAMANIAN & VENKATESWARLU, 1989; BALAKRISHNAN et al., 1992; BOHRINGER et al., 1994).

Apesar da importância do guandu, poucos são os trabalhos de pesquisa desenvolvidos com esta cultura, principalmente nas condições brasileiras, onde é freqüentemente utilizada para adubação verde e pastejo (ALCÂNTARA & BUFARAH, 1988; VIEIRA & SALGADO, 1992; FAVORETTO et al., 1995).

Para o amplo cultivo do guandu, existem alguns fatores ambientais limitantes, uma vez que esta planta caracteristicamente possui lento crescimento inicial e um longo período de maturação (Gooding, 1962; citado por WERNER, 1979). Porém, este aspecto, pode ser ora vantajoso, quando o guandu é consorciado com um cereal de crescimento rápido como milho ou sorgo, ora desvantajoso, no caso da monocultura em que a competição com plantas daninhas é severa (SHELDRAKE & NARAYANAN, 1979).

O crescimento inicial mais lento pode ocorrer, principalmente, em virtude da menor área foliar das plantas jovens, já que a taxa de assimilação líquida do guandu é comparável à de outras espécies com metabolismo fotossintético C_3 (Rowden et al., 1981 citados por NENE et al., 1990). A área foliar das plantas jovens de guandu, aos 10 dias após a semeadura, é 1/3 menor que as de soja e 1/5 menor que as de caupi, mas apesar disto a taxa de crescimento (TCR e TAA) é significativamente maior no guandu. Todavia, o desenvolvimento radicular do guandu é menos vigoroso e mais lento, se comparado com outras leguminosas forrageiras como o caupi (BRAKKE & GARDNER, 1987).

4.2. Estresse hídrico

Em sementes de guandu cv. A115, submetidas aos potenciais osmóticos de -0,3 e -0,5 MPa, utilizando-se PEG 6000, ocorreu diminuição significativa do processo germinativo e da quantidade de amido devido ao decréscimo da atividade específica da α -amilase, β -amilase e invertase (NAYYAR & MALIK, 1993).

A porcentagem de germinação, comprimento de plúmula e raiz primária do guandu nitidamente declinaram conforme se aumenta o estresse hídrico (KUHAD & SHEORAN, 1987; SANTOS et al., 1998). Também, sob condições de 13% de água ocorreu diminuição da germinação e posterior redução do crescimento do guandu (SIVAPRASAD & SARMA, 1987).

As plantas de guandu sob estresse hídrico apresentam acentuada redução da massa seca e da área foliar (MUCHOW, 1982; WILSON & MUCHOW, 1983), como

também da fotossíntese e da respiração (KUHAD et al., 1989). Esta significativa redução do crescimento do guandu diretamente proporcional à redução do potencial hídrico no solo (NANDWAL et al., 1996), provavelmente é devida às alterações no metabolismo dos carboidratos (VERMA & SRIVASTAVA, 1998).

Na cultura do guandu, o efeito prejudicial do elevado estresse hídrico no potencial osmótico (ψ_s) de -1,2 MPa, pôde ser notado somente no estágio de crescimento inicial mais tardio, aos 29 dias após a semeadura (SANTOS et al., 1998), revelando que o crescimento da raiz primária e da plúmula diminui acentuadamente nesse maior estresse hídrico.

Contudo, a seca não causa aumento da taxa de mortalidade das plantas, pois a redução da produção de folhas com a diminuição da área foliar específica (AFE) em toda a planta constitui uma característica vantajosa, especialmente quando períodos de deficiência hídrica ocorrem durante o estágio reprodutivo (LOPEZ et al., 1997), apesar de que em algumas cultivares de guandu ocorre declínio no florescimento (LOPEZ et al., 1994).

4.3. Toxidez do alumínio

Como ocorre na maioria das plantas, a toxidez do alumínio é, freqüentemente, responsável pela redução no crescimento do guandu em solos ácidos (NENE et al., 1990).

As elevadas concentrações de alumínio (de 7,5 até 30 mg dm⁻³, na forma de AlCl₃.6H₂O) provocaram alterações fisiológicas e reduções significativas no número de folhas, na altura, na área foliar, no comprimento e na massa seca das folhas e caules das plantas de guandu (SANTOS et al., 1999). A germinação de sementes e o crescimento inicial de plantas jovens de guandu das cultivares IAC Fava Larga e IAPAR 43-Aratã sob efeito de concentrações crescentes de alumínio (2,5 a 10 mmol dm⁻³) foram significativamente reduzidas (COSSOLINI, 2000; MARIN, 2000).

Os efeitos da toxidez do alumínio na cultura do guandu são notados principalmente no sistema radicular, resultando em um desenvolvimento pouco

vigoroso, com engrossamento e coloração dos tecidos anormais (NARAYANAN & SYAMALA, 1989). De um modo geral, a partir de 10 mg dm^{-3} , verificou-se redução no crescimento do sistema radicular de 30 genótipos de guandu; todavia, os resultados não foram similares, pois dependendo da resposta do genótipo podem-se classificar as plantas de guandu como sensíveis, moderadamente sensíveis e tolerantes à acidez (NARAYANAN & SYAMALA, 1989).

4.4. Estresse hídrico e toxidez do alumínio

Na literatura são raros os trabalhos que abordam os efeitos simultâneos do estresse hídrico e do alumínio. Geralmente, encontram-se trabalhos que relatam os efeitos isolados dos estresses, ou somente do hídrico ou somente do alumínio.

As plantas que se desenvolvem sob condições simultâneas de estresse hídrico e toxidez do alumínio apresentam maior redução no crescimento da parte aérea e do sistema radicular, comparando-se com plantas que se desenvolvem sob condições de apenas um dos estresses (Klimov & Rybakova, 1986; citados por ZAIFNEJAD et al., 1997; KRIZEK & FOY, 1988).

Tanto a germinação de sementes quanto o crescimento inicial do guandu, são acentuadamente inibidos sob efeito simultâneo do estresse hídrico e da toxidez do alumínio, a partir do 4º dia após tratamento com $-0,8 \text{ MPa}$ e $0,5 \text{ mmol dm}^{-3} \text{ Al}^{3+}$ e a partir do 10º dia após tratamento com $-0,6 \text{ MPa}$ e $0,5 \text{ mmol dm}^{-3} \text{ Al}^{3+}$ (MARIN, 2000).

4.5. Teores de prolina livre

Nos estudos associando-se os efeitos do estresse hídrico e do alumínio, utilizam-se, além das medições da massa seca da parte aérea e das raízes, comprimento das raízes, principalmente, a quantificação dos teores de solutos orgânicos como a prolina, por ser um aminoácido indicador de ambos estresses (ASPINALL & PALEG, 1981; ZAIFNEJAD et al., 1997).

Em folhas adultas de várias cultivares de guandu, ocorre um aumento do

conteúdo de prolina livre, indicando que a cultivar TAT-10 seria mais tolerante ao estresse hídrico devido a um maior acúmulo deste aminoácido encontrado nas folhas (MUKANE et al., 1997). As respostas de duas cultivares do guandu, ICPL-151 e H-77-216 cultivadas em solos com potenciais hídricos de -0,77 MPa (estresse moderado) e de -1,34 MPa (estresse severo), indicam um maior acúmulo de prolina na cultivar H-77-216 (NANDWAL et al., 1993). Também, em cinco cultivares de guandu, cultivadas em casa de vegetação sob condições de 4, 8 ou 12 dias sem água, o aumento do conteúdo total de prolina livre encontrado, sugere que o acúmulo deste composto nas folhas de guandu pode ser utilizado como um marcador bioquímico de resistência ao estresse hídrico (MUKANE et al., 1997). Observou-se também que, em condições associadas de restrição hídrica e toxidez do alumínio, houve efeito sinérgico desses estresses promovendo o aumento dos teores de prolina livre na parte aérea das cultivares IAC Fava Larga e IAPAR 43-Aratã (MARIN et al., 2006).

III. MATERIAL E MÉTODOS

1. Material botânico

IAPAR 43-Aratã

A cultivar IAPAR 43-Aratã foi selecionada, principalmente, para a produção de grãos, embora o guandu seja mais conhecido por ser utilizado como adubo verde e forragem. A rusticidade da planta e o valor nutritivo dos grãos deram-lhe o nome de ARATÃ, “semente forte” em língua tupi. Esta cultivar foi obtida por seleção massal em população anã precoce (feijão-guandu anão), proveniente da Colômbia, e introduzida no Brasil pelo Centro Nacional de Pesquisa em Arroz e Feijão, da Embrapa (GO). As sementes da cultivar IAPAR 43-Aratã são arredondadas, predominantemente castanhas, podendo apresentar manchas mais claras ou escuras. Esta cultivar foi selecionada por ser de ciclo curto, permitindo aos agricultores o aproveitamento de terras de baixa fertilidade para produção de grãos de alto valor nutritivo para alimentação animal. Os grãos têm sido utilizados com sucesso na alimentação das aves domésticas. Ainda para a alimentação humana, o IAPAR 43-Aratã equivale, nutricionalmente, ao feijão comum, usualmente presente na alimentação de muitos países, incluindo o Brasil (INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ, 1995).

IAC Fava Larga

A cultivar IAC Fava Larga resultou de seleção massal efetuada em diversos cultivos no período 1982-1985, dentro de material introduzido na Seção de Leguminosas do IAC, em 1953. Apresenta plantas eretas, crescimento determinado, folíolos largos, haste verde tingida por antocianina, flores amarelas com o dorso do estandarte levemente raiado de vermelho, vagens largas, curvas, verdes com manchas marrons na sutura das valvas e nos septos entre sementes, quando imaturas, passando

a cor de palha quando secas. As vagens contêm cinco a seis sementes, que apresentam tegumento de coloração bege pintalgado de marrom com hilo claro e peso médio de 16 gramas para 100 sementes. Para semeaduras efetuadas em fevereiro, as plantas apresentam altura entre 1,80 e 2,00 m no florescimento e ciclo de 225-230 dias da semeadura até a primeira colheita de grãos, enquanto nas semeaduras efetuadas em outubro as plantas apresentam altura de 3,50 m e ciclo de 280 dias. O processo de colheita torna-se bastante facilitado devido às características da inflorescência, que apresenta concentração de flores nas extremidades dos ramos, formando cachos longos com poucas folhas intercaladas, e à maturação uniforme das vagens. A produtividade média de sementes observada no Centro Experimental de Campinas, na semeadura efetuada em fevereiro, foi da ordem de 1.683 kg ha^{-1} na primeira colheita, o que é muito significativo, considerando a sua contribuição em grãos, verdes ou secos, na alimentação humana, e o aumento do potencial de produção de sementes no estado de São Paulo. Em virtude de ciclo longo possibilitando maior acúmulo de fitomassa, a cultivar guandu IAC Fava Larga pode ser utilizada como adubo verde, contribuindo para cobertura do solo e para a restauração e manutenção da sua capacidade produtiva, e como planta forrageira (INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS, 1989).

2. Montagem e condução experimental

A influência do estresse hídrico e da toxidez do alumínio foi verificada no crescimento inicial das cultivares IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, para tanto, o experimento foi instalado e conduzido na sala de crescimento do laboratório de Fisiologia Vegetal no Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária da FCAV, Unesp, Campus de Jaboticabal, SP.

Inicialmente, foram utilizadas oito bandejas de plástico, contendo areia, nas quais foi realizada a semeadura, sendo quatro para cada cultivar. As sementes foram, previamente, tratadas com uma mistura proporcional de 1:1 dos fungicidas, Benlate 500

(Benomyl) e Euparen M 500 PM (Tolyfluanid) na dose de $1,0 \text{ g kg}^{-1}$ para assegurar a sanidade das plantas jovens utilizadas no transplântio. As bandejas foram mantidas no lado externo do laboratório em temperatura e luminosidade ambiente. Foram realizadas regas diárias para evitar a deficiência hídrica durante a germinação.

Após 10 dias da sementeira, as plantas jovens foram transferidas para frascos de vidro, tipo SNAP CAP, transparentes com capacidade de 190 mL, contendo solução nutritiva de CLARK (1977) como descrito na Tabela 1.

Para a disponibilização do Al^{3+} , o pH foi ajustado em 3,8 com solução 0,1N de HCl como recomendado para esta solução nutritiva. Realizou-se a aclimação das plantas jovens à solução nutritiva por 10 dias, utilizando-se solução nutritiva 1/2 força por cinco dias e força total por mais cinco dias.

Devido às características de agente osmótico, quimicamente inerte, atóxico e com alto peso molecular, o polietilenoglicol (PEG) tem sido utilizado em experimentos de estresse hídrico para simular condições de campo (HARDEGREE & EMMERICH, 1994; MURILLO-AMADOR et al., 2002).

Os tratamentos de estresse hídrico induzidos por PEG 6000 foram calculados (VILLELA et al., 1991) para os potenciais osmóticos de 0,000; -0,004; -0,006; -0,008 e -0,010 MPa à temperatura de 25°C e adequados à solução nutritiva (*vide* Apêndice A, p. 100 e 101).

Para o efeito simultâneo do estresse hídrico e toxidez do alumínio adicionou-se sulfato de alumínio $[\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}]$ à solução nutritiva nas concentrações de 0,00; 0,25; 0,50; 0,75 e $1,00 \text{ mmol Al}^{3+} \text{ dm}^{-3}$ (NARAYANAN & SYAMALA, 1989).

Os frascos foram revestidos com papel alumínio visando impedir o crescimento de algas nas soluções. Na extremidade superior de cada frasco foi ajustado um disco de Isopor[®] com um furo central (Figura 5), no qual a planta jovem com 20 dias de idade ficou inserida com a parte aérea exposta ao ambiente e o sistema radicular imerso na solução nutritiva durante 10 dias na sala de crescimento, com irradiância média de $190 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, fotoperíodo controlado de 12 horas e temperatura média de $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

Tabela 1. Composição química da solução nutritiva de Clark. (CLARK, 1977).

Composto	Concentração (mM)
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2,53
KNO_3	1,30
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,60
NH_4NO_3	0,90
KCl	0,50
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,0345
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$7,0 \times 10^{-3}$
H_3BO_4	$19,0 \times 10^{-3}$
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$2,0 \times 10^{-3}$
$\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	$0,6 \times 10^{-3}$
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	$0,5 \times 10^{-3}$
$\text{Fe} \cdot \text{EDTA}$	$38,0 \times 10^{-3}$

pH foi ajustado em 3,8 como recomendado para esta solução nutritiva.

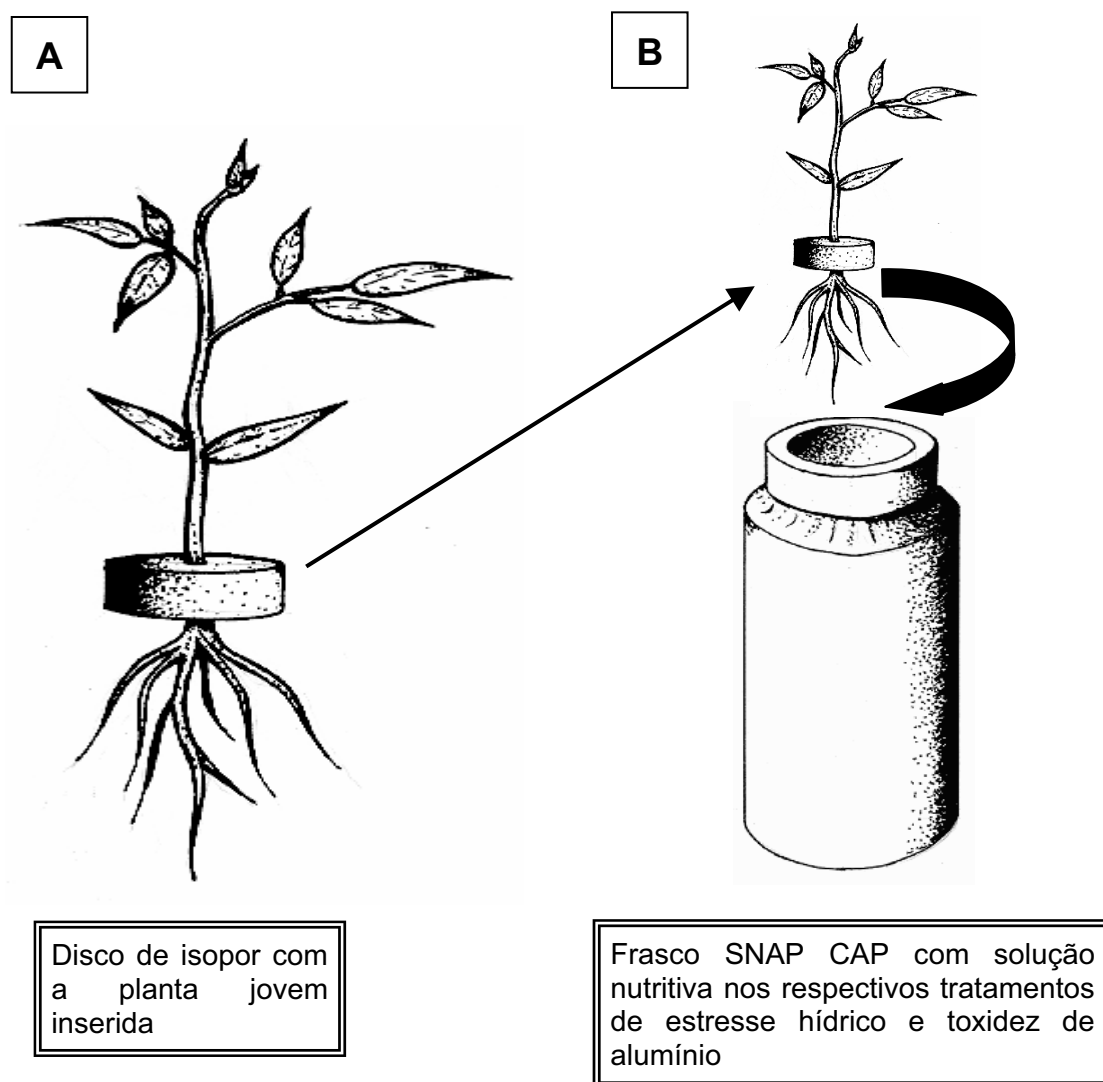


Figura 5. Transplântio da planta jovem de guandu para a solução nutritiva com as concentrações de alumínio. **A.** Disco de isopor com a planta jovem inserida. **B.** Montagem no frasco SNAP CAP com capacidade de 190 mL.

As soluções foram trocadas a cada três dias, em virtude de possíveis alterações da composição química, dos potenciais osmóticos e das concentrações de alumínio além de promover a aeração.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, no esquema fatorial com três fatores, sendo duas cultivares de guandu, IAPAR 43-Aratã (C1) e IAC Fava Larga (C2), cinco potenciais osmóticos (H1, H2, H3, H4 e H5) e cinco níveis de toxidez do alumínio (A1, A2, A3, A4 e A5), constituindo desta forma 50 tratamentos (*vide* Esquema 1, p.28) com quatro repetições.

3. Avaliações fisiológicas

As avaliações das plantas jovens de ambas cultivares de guandu foram realizadas 30 dias após a semeadura (10 dias de germinação, 10 dias de aclimação e 10 dias sob os estresses), foram determinados os seguintes parâmetros fisiológicos: altura (cm), massa fresca de folhas (mg), massa seca de caules (mg), área foliar (dm²), densidade de raízes (mm cm⁻³ de solução nutritiva) e teores de prolina livre nas folhas $\mu\text{mol g}^{-1}$ de massa fresca (M.F.).

3.1. Parte aérea

As plantas jovens foram cortadas na altura do colo em seguida realizou-se a determinação da altura das plantas e massa fresca de folhas. A área foliar foi mensurada pelo sistema de análise de imagens Delta-T Image Analysis System. Os caules foram colocados em saco de papel e levados à estufa de circulação forçada de ar a 80°C. Para as pesagens, tanto da massa fresca quanto da massa seca, utilizou-se uma balança analítica Denver Instrument Company AA-200, com precisão de 0,0001g.

Esquema 1. Tratamentos para avaliação do efeito simultâneo do estresse hídrico e toxidez de alumínio utilizados para as cultivares IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga

IAPAR 43-Aratã	0,0 MPa 0,0 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	0,0 MPa 0,25 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	0,0 MPa 0,50 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	0,0 MPa 0,75 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	0,0 MPa 1,0 mmol Al ³⁺ dm ⁻³
	-0,004 MPa 0,0 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,004 MPa 0,25 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,004 MPa 0,50 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,004 MPa 0,75 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,004 MPa 1,0 mmol Al ³⁺ dm ⁻³
	-0,006 MPa 0,0 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,006 MPa 0,25 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,006 MPa 0,50 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,006 MPa 0,75 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,006 MPa 1,0 mmol Al ³⁺ dm ⁻³
	-0,008 MPa 0,0 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,008 MPa 0,25 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,008 MPa 0,50 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,008 MPa 0,75 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,008 MPa 1,0 mmol Al ³⁺ dm ⁻³
	-0,010 MPa 0,0 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,010 MPa 0,25 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,010 MPa 0,50 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,010 MPa 0,75 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,010 MPa 1,0 mmol Al ³⁺ dm ⁻³
IAC Fava Larga	0,0 MPa 0,0 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	0,0 MPa 0,25 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	0,0 MPa 0,50 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	0,0 MPa 0,75 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	0,0 MPa 1,0 mmol Al ³⁺ dm ⁻³
	-0,004 MPa 0,0 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,004 MPa 0,25 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,004 MPa 0,50 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,004 MPa 0,75 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,004 MPa 1,0 mmol Al ³⁺ dm ⁻³
	-0,006 MPa 0,0 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,006 MPa 0,25 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,006 MPa 0,50 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,006 MPa 0,75 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,006 MPa 1,0 mmol Al ³⁺ dm ⁻³
	-0,008 MPa 0,0 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,008 MPa 0,25 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,008 MPa 0,50 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,008 MPa 0,75 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,008 MPa 1,0 mmol Al ³⁺ dm ⁻³
	-0,010 MPa 0,0 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,010 MPa 0,25 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,010 MPa 0,50 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,010 MPa 0,75 mmol Al ³⁺ dm ⁻³	-0,010 MPa 1,0 mmol Al ³⁺ dm ⁻³

3.1.1. Teores de prolina livre nas folhas

Os teores de prolina livre nas folhas de ambas cultivares de guandu, foram determinados pelo procedimento que consiste na homogeneização de aproximadamente 0,5 g de massa fresca da parte aérea, com 10 mL de ácido sulfosalicílico 3% e filtragem. Primeiramente, procedeu-se o preparo do ácido ninhidrina, para tanto, foi necessário a diluição sob aquecimento de 1,25 g de ninhidrina em 30 mL de ácido acético glacial e 20 mL de ácido fosfórico 6 M. Em um tubo de ensaio foram colocados 2 mL de filtrado da parte aérea que reagiram com 2 mL de ácido ninhidrina e 2 mL de ácido acético glacial por 60 minutos em banho-maria à temperatura de 100°C. Decorrido este tempo, o tubo de ensaio foi colocado em um recipiente com gelo para finalizar a reação; em seguida, foram adicionados 4 mL de tolueno e a solução foi homogeneizada agitando-se por 15 a 20 segundos. A leitura de absorbância das amostras foi realizada no comprimento de onda 520 nm (BATES et al., 1973), utilizando-se para tanto o espectrofotômetro Beckman DU 640.

Os teores de prolina foram calculados com base na massa fresca das lâminas foliares de guandu, de acordo com a equação abaixo descrita por BATES et al. (1973).

$$\mu\text{mol g}^{-1} \text{ de massa fresca} = \frac{\frac{\frac{\mu\text{g prolina}}{\text{mL}} \times \text{mL tolueno}}{115,5 \mu\text{g} / \mu\text{mol}}}{\frac{\text{g amostra}}{5}}$$

3.2. Sistema radicular

Imediatamente após o corte da parte aérea, as raízes foram cuidadosamente separadas e conservadas em frascos contendo solução de álcool a 20% e mantidas sob refrigeração.

Para a determinação da densidade de raízes, utilizou-se sistema de análise de

imagens da Delta-T Devices LTD. Para tanto, o sistema radicular de cada planta foi submetido à coloração com azul de metileno por aproximadamente dois minutos, e em seguida as raízes foram dispostas sobre uma bandeja com água onde foi realizada a leitura da imagem com um scanner Hewlett Packard modelo 5C. A imagem de cada sistema radicular foi analisada pelo software Delta-T Scan e o comprimento foi mensurado pelo método de HARRIS & CAMPBELL (1989). A densidade das raízes foi calculada dividindo-se o comprimento radicular calculado pelo volume de solução nutritiva (S.N.) no frasco SNAP CAP (mm cm^{-3} S.N.).

4. Tratamento estatístico

Para a análise dos resultados obtidos foi empregado, primeiramente, o tratamento estatístico das características individuais. Os dados foram, inicialmente, analisados quanto à homocedasticidade (SANTANA & RANAL, 2000) pelo teste de Levene, e para os teores de prolina nas folhas foi realizada a transformação logarítmica $[\ln (x+1)]$ para homogeneidade das variâncias. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e análise da regressão polinomial (BANZATTO & KRONKA, 2006). Ainda, visando o estudo da significância das interações triplas foram realizadas as análises multivariadas de agrupamento e de componentes principais, que permitiram uma avaliação em conjunto dos estresses nas cultivares guandu (MANLY, 1994). A análise de agrupamento engloba uma variedade de técnicas e algoritmos cujo objetivo é encontrar e separar objetos em grupos similares (SNEATH & SOKAL, 1973). Para verificar a medida de similaridade entre os tratamentos foi adotada a distância Euclidiana, e para a estratégia de agrupamento utilizou-se o método não ponderado de agrupamento aos pares com médias aritméticas (UPGMA - Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean). A análise de componentes principais é uma transformação que se aplica aos dados na tentativa de reduzir o conjunto de variáveis correlacionadas em um conjunto menor de variáveis não correlacionadas, denominados

componentes principais, com o objetivo de reter o máximo de informação original. Esses componentes ortogonais são combinações lineares das variáveis originais (MANLY,1994).

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os estresses abióticos são considerados problemas eminentes para a agricultura, podendo reduzir significativamente os rendimentos das lavouras (NEPOMUCENO et al., 2001), além de restringir as latitudes e os solos nos quais espécies comercialmente importantes podem ser cultivadas (WANG et al., 2003; BARTELS & SOUER, 2004).

A análise de variância dos dados das avaliações fisiológicas (Tabela 2) revelou resultados significativos do alumínio (A) na altura, da interação cultivares x disponibilidade hídrica (C x H) na massa seca de caules e teores de prolina livre nas folhas, da interação cultivares x alumínio (C x A) na massa fresca de folhas, massa seca de caules e teores de prolina livre nas folhas e da interação disponibilidade hídrica x alumínio (H x A) na massa fresca de folhas, massa seca de caules, área foliar, teores de prolina livre nas folhas e densidade de raízes. Na altura embora os resultados sejam significativos para o estresse hídrico, o estudo da regressão polinomial apresentou coeficiente de determinação muito baixo, $R^2 = 0,3205$ não permitindo ajuste confiável dos dados a equação quadrática.

No estudo da toxidez do alumínio verificou-se redução significativa da altura em ambas cultivares, sendo a altura das plantas jovens 12,2% menor na concentração de $1,00 \text{ mmol dm}^{-3} \text{ Al}^{3+}$ (Tabela 3, Figura 6).

Como ocorre na maioria das plantas, a toxidez do alumínio é, freqüentemente, responsável pela redução no crescimento do guandu (NENE et al., 1990). As elevadas concentrações de alumínio em solução nutritiva (de 7,5 até 30 mg dm^{-3} , na forma de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) provocaram alterações fisiológicas e redução significativa na altura das plantas de guandu (SANTOS et al., 1999). O crescimento inicial de plantas jovens de guandu das cultivares IAC Fava Larga e IAPAR 43-Aratã sob efeito de concentrações crescentes de alumínio ($2,5$ a 10 mmol dm^{-3}) também foram significativamente reduzidas (COSSOLINI, 2000; MARIN, 2000).

Tabela 2. Análises de variância de altura (cm), massa fresca de folhas (mg), massa seca de caules (mg), área foliar (dm²), teores de prolina livre nas folhas (μmol g⁻¹ de Massa Fresca) e densidade de raízes (mm cm⁻³ de Solução Nutritiva) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios					
		Altura de Plantas Jovens (cm)	Massa Fresca de Folhas (mg)	Massa Seca de Caules (mg)	Área Foliar (dm ²)	Teores de Prolina Livre nas folhas ⁽¹⁾ μmol g ⁻¹ M.F. ⁽²⁾	Densidade de Raízes mm cm ⁻³ S.N. ⁽³⁾
Cultivares (C)	1	17,8802*	1124970,0002**	6655,1185**	1,1903**	3,3458**	0,2664*
Estresse Hídrico (H)	4	11,7137*	365343,6412**	366,9699**	0,4334**	69,3477**	0,1552*
Alumínio (A)	4	20,1465**	111195,7987**	163,5853**	0,1002**	4,5470**	0,1787*
Interação (CxH)	4	7,8513 ^{ns}	19715,7987 ^{ns}	135,7408*	0,0204 ^{ns}	1,0757*	0,0651 ^{ns}
Interação (CxA)	4	5,7437 ^{ns}	40472,9796**	127,0439*	0,0288 ^{ns}	2,8250**	0,1249 ^{ns}
Interação (HxA)	16	4,4090 ^{ns}	18846,9540*	77,5201*	0,0218*	1,5971**	0,1528**
Interação (CxHxA)	16	5,4403 ^{ns}	17446,3168*	78,4810*	0,0221*	1,0014**	0,0954 ^{ns}
Resíduo	150	4,1141	9460,7238	44,4016	0,0120	0,4414	0,0564
C.V. (%)		15,4221	31,4598	22,6321	32,7779	21,5288	25,7663

^{ns}: não significativo (P > 0,05); * : significativo (P < 0,05); ** : significativo (P < 0,01);

¹ Dados de teores de prolina livre nas folhas transformados em ln(x+1)

² μmol g⁻¹ M.F. = μmol g⁻¹ de Massa Fresca

³ mm cm⁻³ S.N. = mm cm⁻³ de Solução Nutritiva de Clark

Tabela 3. Regressão polinomial da altura (cm) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios
		Altura de Plantas Jovens (cm)
R.L. para A	1	73,1880**
R.Q. para A	1	0,1414 ^{ns}
R.C. para A	1	7,2361 ^{ns}
D.R. para A	1	0,0206 ^{ns}
Resíduo	150	4,1141

^{ns}: não significativo ($P > 0,05$);

** : significativo ($P < 0,01$);

R.L.: regressão linear;

R.Q.: regressão quadrática;

R.C.: regressão cúbica;

D.R.: desvio da regressão.

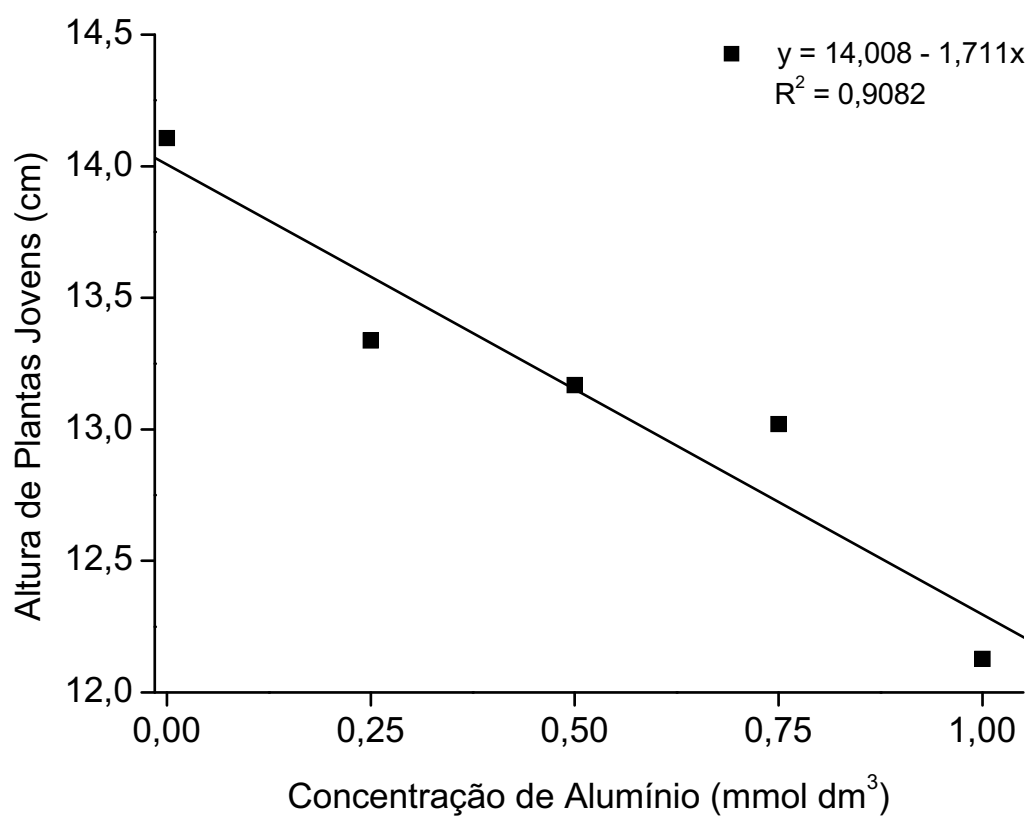


Figura 6. Altura (cm) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

No guandu constatou-se que, as concentrações entre 75-80 mg dm⁻³ e 2,0 e 9,0 mmol_c dm⁻³ são suficientes para provocar efeitos deletérios ao crescimento da parte aérea (POOLPATANA & HUE, 1994; MARIN, 2003, respectivamente). Em plantas de feijão-mungo as elevadas concentrações de alumínio (10mM) reduziram em 52% a altura das plantas (ALI et al., 2008).

Em concentrações tóxicas do alumínio, a inibição da expansão celular é, provavelmente, o evento primário e a inibição da divisão celular é uma resposta dos efeitos deletérios sobre o crescimento celular, refletindo na regulação interna dos processos de crescimento e desenvolvimento (MARSCHNER, 1991, KOCHIAN et al., 2004).

Na parte aérea das plantas, o principal efeito deletério do alumínio está associado aos processos que envolvem o cálcio, necessário como elemento estrutural (parede celular e membranas), elemento regulatório (equilibra a relação cátions/ânions), participante na divisão e expansão celular, em processos secretórios, como mensageiro secundário e em rotas de transdução de sinais (KERBAUY, 2004; TAIZ & ZEIGER, 2004).

O alumínio interage com as vias de transdução de sinais do Ca²⁺, em especial às relacionadas com a homeostase e transporte deste elemento, regulados pela enzima fosfolipase C (ZHANG & RENGEL, 1999) sendo que o transporte de cálcio pode ser inibido em 69% por concentrações de 100 µM de Al³⁺ (ROUT et al., 2001). O alumínio ainda pode inibir um grande número de processos metabólicos essenciais e interagir com qualquer sistema que usa Mg²⁺ ou qualquer forma de fosfato, podendo alterar as funções de proteínas regulatórias ligadas a GTP e hexoquinases, podendo ser a divisão celular posteriormente afetada interferindo no crescimento da planta (RENGEL, 1992; JONES & KOCHIAN, 1995; ROUT et al., 2001).

A interação cultivares e potenciais osmóticos (C x H) foi significativa para massa seca de caules (Tabela 4, Figura 7) e teores de prolina livre nas folhas (Tabela 5, Figura 8). O crescimento de caules foi acentuadamente reduzido com o aumento da restrição hídrica somente na cv. IAC Fava Larga (Figura 7) sendo a massa seca de caules 27,5% menor no potencial osmótico de -0,010 MPa.

Tabela 4. Regressão polinomial da massa seca de caules (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob estresse hídrico (H), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios
		Massa Seca de Caules (mg)
R.L. para C1	1	23,0387 ^{ns}
R.Q. para C1	1	35,5651 ^{ns}
R.C. para C1	1	7,9114 ^{ns}
D.R. para C1	1	40,6302 ^{ns}
R.L. para C2	1	1668,5802 ^{**}
R.Q. para C2	1	128,6146 ^{ns}
R.C. para C2	1	3,3751 ^{ns}
D.R. para C2	1	253,1676 [*]
Resíduo	150	44,4016

^{ns}: não significativo (P > 0,05);

* : significativo (P < 0,05);

** : significativo (P < 0,01);

R.L.: regressão linear;

R.Q.: regressão quadrática;

R.C.: regressão cúbica;

D.R.: desvio da regressão.

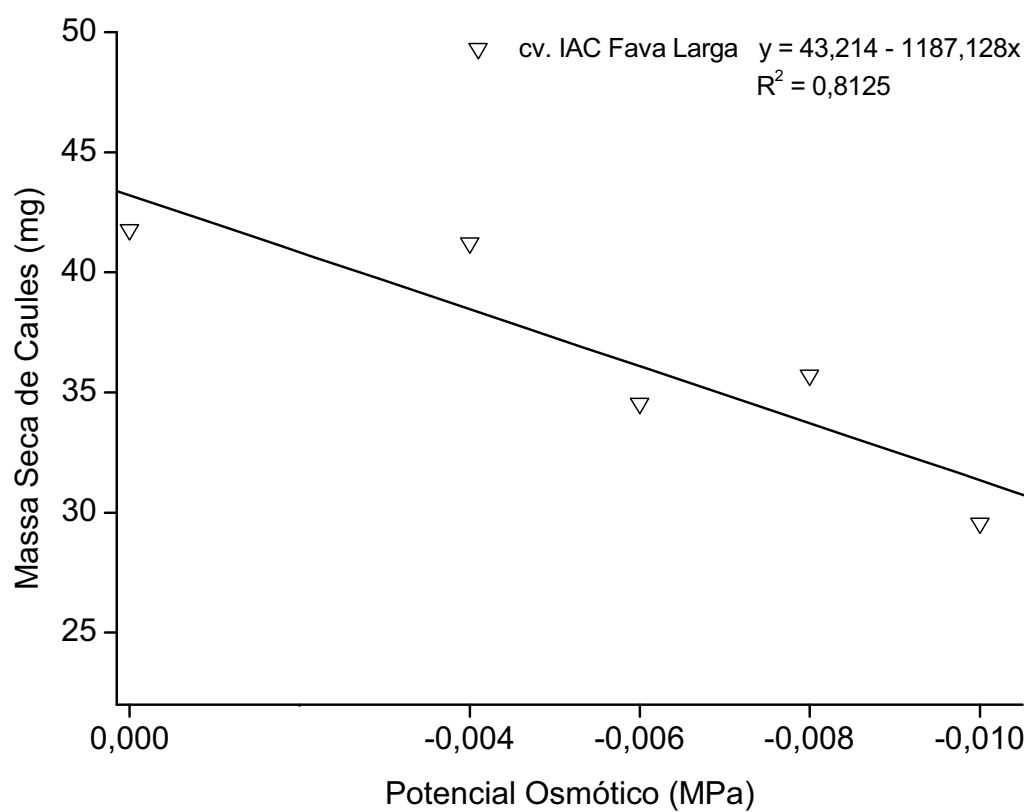


Figura 7. Massa seca de caules (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAC Fava Larga (C2), sob estresse hídrico (H), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Tabela 5. Regressão polinomial dos teores de prolina livre nas folhas ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de Massa Fresca) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob estresse hídrico (H), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios
		Teores de Prolina Livre nas Folhas ($\mu\text{mol g}^{-1}$ M.F.) ⁽¹⁾
R.L. para C1	1	120,5170 ^{**} (2)
R.Q. para C1	1	3,5664*
R.C. para C1	1	2,1744*
D.R. para C1	1	0,0045 ^{ns}
R.L. para C2	1	127,5077 ^{**}
R.Q. para C2	1	19,0979 ^{**}
R.C. para C2	1	8,4544 ^{**}
D.R. para C2	1	0,3717 ^{ns}
Resíduo	150	0,4414

^{ns}: não significativo ($P > 0,05$);

* : significativo ($P < 0,05$);

** : significativo ($P < 0,01$);

R.L.: regressão linear;

R.Q.: regressão quadrática;

R.C.: regressão cúbica;

D.R.: desvio da regressão.

¹ $\mu\text{mol g}^{-1}$ M.F. = $\mu\text{mol g}^{-1}$ de Massa Fresca;

² Dados transformados em $\ln(x+1)$

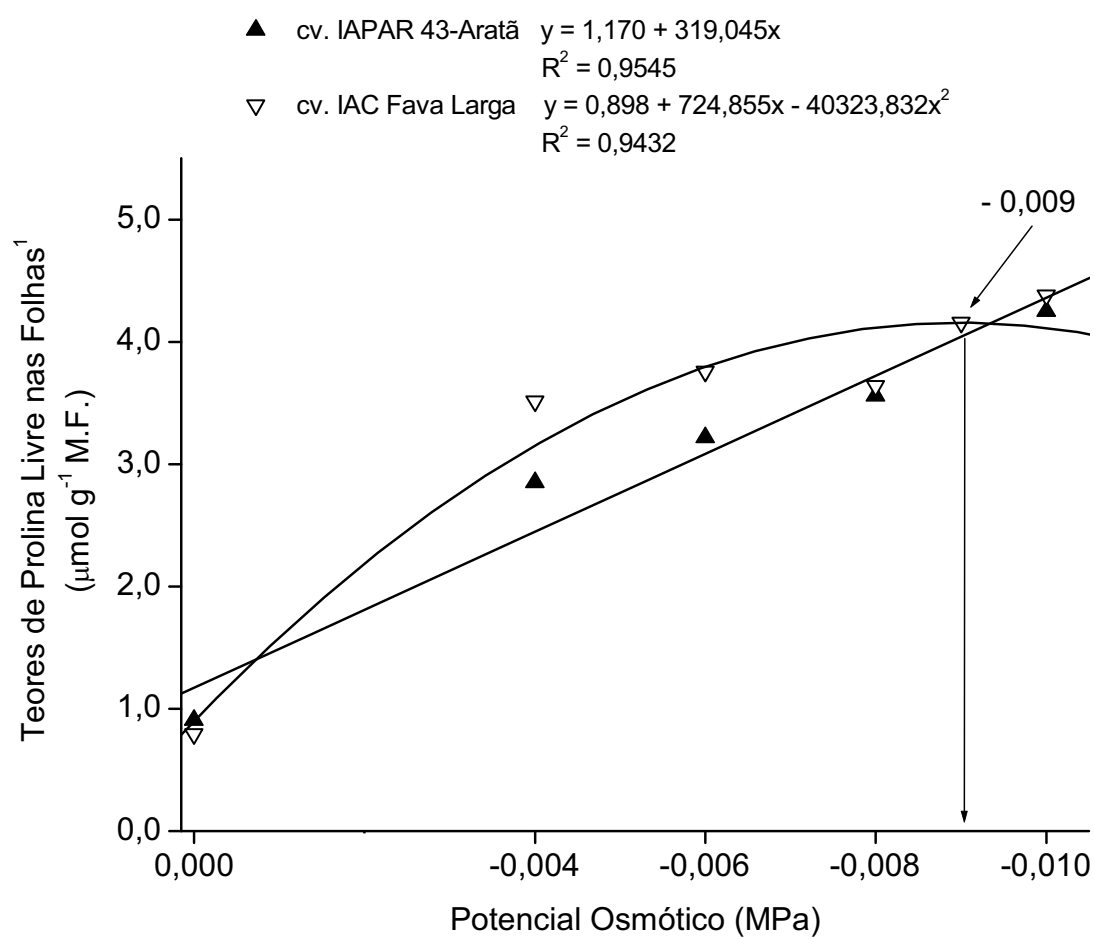


Figura 8. Teores de prolina livre ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de Massa Fresca) nas folhas de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob estresse hídrico (H), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006. ¹Dados transformados em $\ln(x+1)$.

Com relação a cv. IAPAR 43-Aratã não houve diferença significativa entre os potenciais osmóticos e comparada cv. IAC Fava Larga a massa seca de caules foi significativamente inferior em todos os tratamentos (Tabela V, Apêndice B). O crescimento do caule tem sido pouco estudado, comparado aos parâmetros foliares, mas provavelmente ele é influenciado pelas mesmas forças que limitam o crescimento foliar (TAIZ & ZEIGER, 2004). O crescimento vegetal é caracterizado também por diferenciação celular, multiplicação de membranas, organelas, aumento dos teores de proteínas e aumento no material que forma a parede celular, cujas condições de estresse hídrico são fundamentalmente deletérias e determinantes para o adequado crescimento vegetal (HSIAO, 1973; SANDERSON et al., 1997). Os efeitos de diferentes regimes hídricos (0, 25, 50, 75 ou 100% da capacidade de campo), 30 dias após a semeadura evidenciaram menor crescimento com o aumento do estresse hídrico (RAGHUWANSHI et al., 1998). Em plantas de caruru-roxo sob estresse hídrico de -0,4 MPa em solução nutritiva durante oito dias, houve redução de 45% da massa seca de caules (OMAMI, 2005).

As plantas de guandu sob estresse hídrico apresentam acentuada redução da massa seca da parte aérea (MUCHOW, 1982; WILSON & MUCHOW, 1983), como também da fotossíntese e da respiração (KUHAD et al., 1989). Esta significativa redução do crescimento do guandu em função da redução do potencial hídrico no solo (NANDWAL et al., 1996), provavelmente é devida às alterações no metabolismo dos carboidratos (VERMA & SRIVASTAVA, 1998)

No presente trabalho, os resultados evidenciaram que houve acúmulo significativo de prolina livre nas folhas de 372,7% para cv. IAPAR 43-Aratã no potencial osmótico de -0,010 MPa e de 462,7% para a cv. IAC Fava Larga no valor máximo de -0,009 MPa (Figura 8). O acúmulo de osmoprotetores, como a prolina, em plantas constitui menos que 5% dos aminoácidos totais livres em condições normais, mas sob estresse a concentração de prolina livre pode chegar a 80% do conjunto total de aminoácidos (MATYSIK et al., 2002).

Como osmólito compatível a prolina acumula-se, principalmente, no citoplasma atuando como osmoprotetor, restringindo a desidratação do citosol sob redução do

potencial hídrico extracelular (KAVI KISHOR et al., 2005). Em condições de estresse hídrico de -0,6 a -1,1 MPa, após 14 dias, houve um aumento de 56% nos teores de prolina livre nas folhas da forrageira feijão-mungo (HAMIDOU et al., 2007).

Em folhas adultas de várias cultivares de guandu o aumento do conteúdo de prolina livre indicou que a cultivar TAT-10 seria mais tolerante ao estresse hídrico, porque apresentou elevado teor deste aminoácido em suas folhas (MUKANE et al., 1993). As respostas das cultivares de guandu, ICPL-151 e H-77-216, ao estresse hídrico, em solos com potenciais hídricos de -0,77 MPa (estresse moderado) e de -1,34 MPa (estresse severo) indicaram um maior acúmulo de prolina na cultivar H-77-216, que se mostrou também mais tolerante à condição de falta de água (NANDWAL et al., 1993). Também em cinco cultivares de guandu, cultivados em casa de vegetação sob quatro regimes de disponibilidade hídrica no solo (0, 4, 8 ou 12 dias sem água), verificou-se um aumento no conteúdo total de prolina livre, sugerindo que o acúmulo deste aminoácido nas folhas pode ser utilizado como um marcador bioquímico de resistência ao estresse hídrico (MUKANE et al., 1997). A prolina também desempenha uma função importante durante o desenvolvimento das plantas servindo como uma fonte rápida e acessível de energia (PHANG, 1985), além disso, a oxidação de uma molécula de prolina fornece 30 ATPs para a célula (HU et al., 1996).

A interação cultivar e alumínio (C x A) foi significativa na massa fresca de folhas (Tabela 6) e teores de prolina livre nas folhas (Tabela 7). Todavia, apenas na cv. IAC Fava Larga houve redução de 38,5% na massa fresca de folhas (Figura 9) e aumento de 147,8% nos teores de prolina a partir de 0,02 até 1,00 mmol Al^{3+} dm^{-3} (Figura 10). Com relação a cv. IAPAR 43-Aratã não houve diferença significativa entre as concentrações de alumínio para essas avaliações (Tabela III e IX, Apêndice B). Comparada a cv. IAC Fava Larga a massa fresca de folhas da cv IAPAR 43-Aratã foi menor nos tratamentos de 0,00; 0,25; 0,50 e 0,75 mmol dm^{-3} Al^{3+} (Tabela III, Apêndice B) e o acúmulo de prolina foi menor apenas na concentração de 1,00 mmol dm^{-3} Al^{3+} (Tabela IX, Apêndice B).

Tabela 6. Regressão polinomial da massa fresca de folhas (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios
		Massa Fresca de Folhas (mg)
R.L. para C1	1	34458,3752 ^{ns}
R.Q. para C1	1	3763,9556 ^{ns}
R.C. para C1	1	4246,7328 ^{ns}
D.R. para C1	1	2495,6490 ^{ns}
R.L. para C2	1	419143,3682 ^{**}
R.Q. para C2	1	510,8401 ^{ns}
R.C. para C2	1	140762,8741 ^{**}
D.R. para C2	1	1293,1216 ^{ns}
Resíduo	150	9460,7238

^{ns}: não significativo ($P > 0,05$);

^{**}: significativo ($P < 0,01$);

R.L.: regressão linear;

R.Q.: regressão quadrática;

R.C.: regressão cúbica;

D.R.: desvio da regressão.

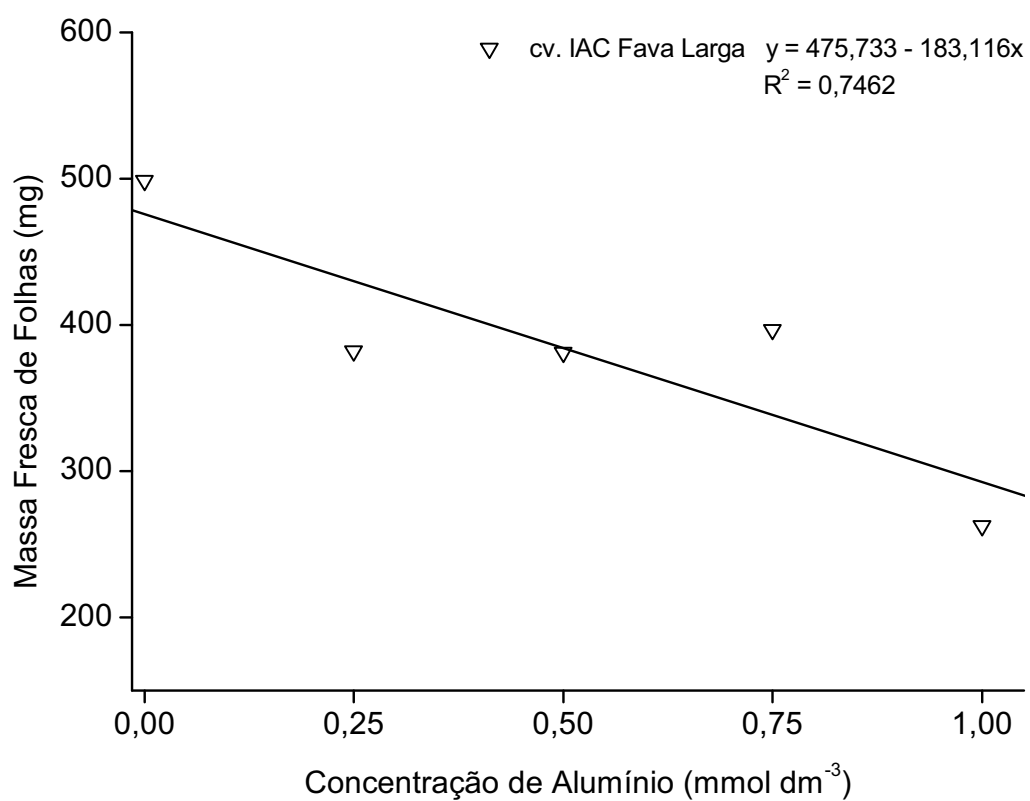


Figura 9. Massa fresca de folhas (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAC Fava Larga (C2), sob toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Tabela 7. Regressão polinomial dos teores de prolina livre nas folhas ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de Massa Fresca) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios
		Teores de Prolina Livre nas Folhas ($\mu\text{mol g}^{-1}$ M.F.) ⁽¹⁾
R.L. para C1	1	1,3217 ^{ns(2)}
R.Q. para C1	1	1,2467 ^{ns}
R.C. para C1	1	0,0469 ^{ns}
D.R. para C1	1	0,0102 ^{ns}
R.L. para C2	1	21,2000**
R.Q. para C2	1	1,7053*
R.C. para C2	1	3,8469**
D.R. para C2	1	0,1094 ^{ns}
Resíduo	150	0,4414

^{ns}: não significativo ($P > 0,05$);

* : significativo ($P < 0,05$);

** : significativo ($P < 0,01$);

R.L.: regressão linear;

R.Q.: regressão quadrática;

R.C.: regressão cúbica;

D.R.: desvio da regressão.

¹ $\mu\text{mol g}^{-1}$ M.F. = $\mu\text{mol g}^{-1}$ de Massa Fresca;

² Dados transformados em $\ln(x+1)$

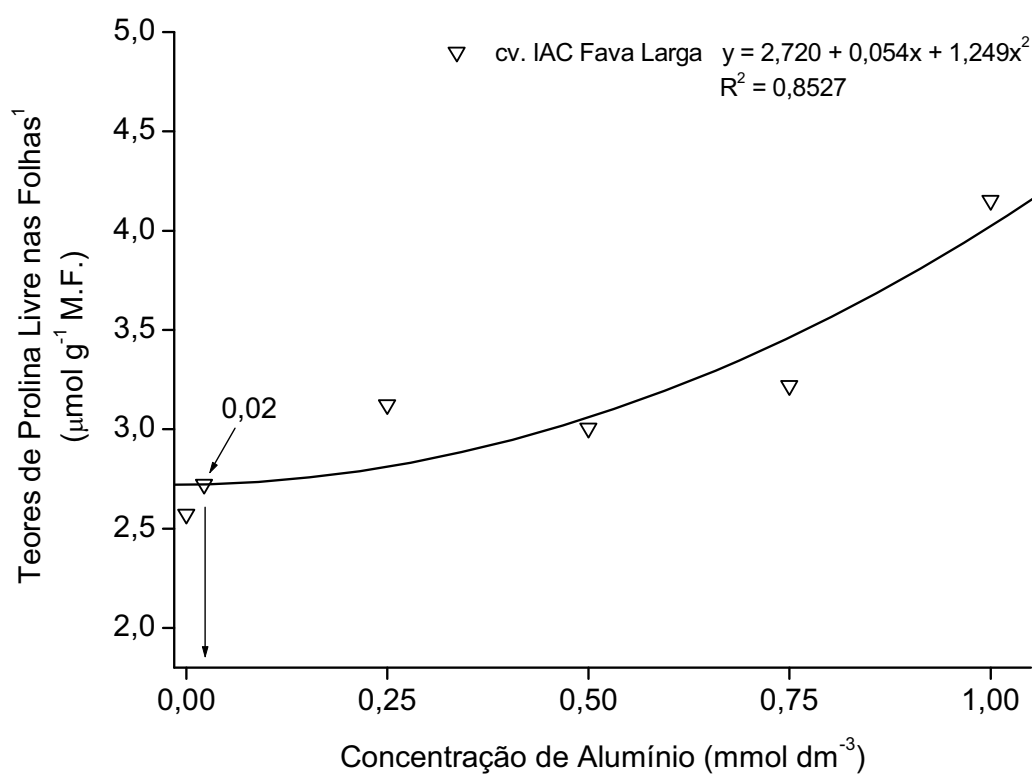


Figura 10. Teores de prolina livre ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de Massa Fresca) nas folhas de plantas jovens de guandu, cv. IAC Fava Larga (C2) sob toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006. ¹Dados transformados em $\ln(x+1)$.

Em cultivares de ervilha, trigo, milho e cevada, sob condições de excesso de alumínio, o acúmulo significativo de prolina indica que a síntese deste aminoácido está inteiramente relacionada com os teores de alumínio presentes nas plantas (ZALFNEJAD et al., 1997). Os resultados do presente trabalho indicam que o acúmulo de prolina causou efeito de osmoproteção, auxiliando na manutenção hídrica das células foliares da cv. IAC Fava Larga, pois, indubitavelmente, ocorreu um efluxo de água (diminuição do potencial hídrico celular, ψ_{celular}), considerando os resultados obtidos para a massa fresca (Figura 9). O alumínio, neste caso, causou diminuição do potencial osmótico que promoveu a saída de água da célula e, provavelmente, pelas rotas de sinalização houve o início de uma cascata de eventos moleculares para provocar o acúmulo de prolina como soluto compatível, resultando em ajustamento osmótico nas folhas da cv. IAC Fava Larga.

A influência negativa do alumínio na condutibilidade hidráulica das raízes (ZHAO et al., 1987; BARCELÓ et al., 1996) indica que a membrana plasmática é o sítio primário da injúria causada pelo Al^{3+} , portanto, a inibição do crescimento da raiz é o sintoma inicial da toxidez do alumínio nas plantas, resultando na redução e em danos no sistema radicular que interferem negativamente na absorção de água (DEGENHARDT et al., 1998, GIANNAKOULA et al., 2008).

Desta forma, infere-se que o acúmulo de prolina livre nas folhas seja decorrente do estresse hídrico resultante da toxidez do alumínio (BARCELÓ & POSCHENRIEDER, 1990) e, conseqüentemente, as espécies que apresentam a prolina como osmoprotetor podem ter maior tolerância às condições de toxidez do alumínio (GIANNAKOULA et al., 2008). Também verificou-se aumento nos teores de prolina livre em plantas jovens de duas cultivares de trigo sob toxidez do alumínio, todavia, não houve diferença na porcentagem de prolina livre contida nos aminoácidos totais, indicando que o acúmulo de prolina foi simplesmente um sintoma da injúria provocada pelo alumínio (CHEN, 2006). Corroborando, com os resultados obtidos na cv. IAC Fava Larga. Ainda na massa seca de caules o resultado da interação C x A foi significativo (Tabela 2), porém não foi obtido ajuste confiável dos dados no estudo da regressão polinomial.

Para a interação potencial osmótico e alumínio (H x A), exceto nas avaliações de altura, houve efeito de sinergia nas demais avaliações (Tabelas 8 a 12 e Figuras 11 a 19), foi evidenciado na massa fresca de folhas e área foliar (Tabela 8 e Figura 11 e 12; Tabela 9 e Figura 13 e 14) efeito sinérgico das concentrações de 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 mmol dm⁻³ Al³⁺ com o aumento do estresse hídrico até -0,010 MPa resultando na diminuição da massa fresca de folhas em 50,4%; 47,9%; 57,6% e 65,1% e na área foliar em 46,0%; 48,3%; 53,1% e 65,9%, respectivamente. Contudo, somente em -0,006 MPa houve drástica diminuição da massa fresca de folhas (50,6%) e da área foliar (43,1%) com o aumento das concentrações de alumínio até 1,00 mmol dm⁻³ Al³⁺.

Na literatura pertinente, geralmente, encontram-se informações dos efeitos isolados desses estresses, isto é, deficiência hídrica ou toxidez do alumínio, sobre a interação entre os estresses e seus efeitos em plantas forrageiras as informações são praticamente inexistentes (MARIN, 2003). O efeito sinérgico foi observado em plantas jovens de sorgo (ZAIFNEJAD et al., 1997) e de guandu (MARIN, 2003), evidenciando diminuição acentuada no crescimento da parte aérea em comparação com as plantas sob os estresses isolados, corroborando com os resultados do presente trabalho.

Para massa seca de caules (Tabela 10 e Figura 15) verificou-se acentuada redução (37,7%) conforme ocorreu a diminuição do potencial osmótico até -0,010 MPa (ψ + negativo), embora apenas tenha ocorrido efeito de sinergismo na concentração de 1,00 mmol Al³⁺ dm⁻³. Considerando o efeito do alumínio (Tabela 10 e Figura 16), ambas cultivares mostraram diminuição significativa da massa seca de caules em 25,0% no potencial osmótico de -0,008 MPa e 35,0% a partir de -0,31 mmol dm⁻³ Al³⁺ no potencial osmótico de -0,010 MPa até a concentração de 1,00 mmol dm⁻³ Al³⁺. De fato, os efeitos do alumínio na parte aérea provocam diminuição no transporte de cálcio e ferro induzindo a deficiência destes minerais, causando a redução da massa seca e, *per se*, menor crescimento (ROUT et al., 2001).

O efeito sinérgico causou acúmulo de prolina livre nas folhas (Tabela 11, Figura 17), de 421,3%; 380,1%; 414,4% nas concentrações de 0,00; 0,25; 0,50 mmol dm⁻³ Al³⁺, respectivamente, com o aumento do estresse hídrico até -0,010 MPa e de 418,7% e 458,9% nas concentrações de 0,75 e 1,00 mmol dm⁻³ Al³⁺, respectivamente, com o

Tabela 8. Regressão polinomial da massa fresca de folhas (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios
		Massa Fresca de Folhas (mg)
R.L. para H d. A1	1	206493,8461**
R.Q. para H d. A1	1	35246,1674 ^{ns}
R.C. para H d. A1	1	2702,2381 ^{ns}
D.R. para H d. A1	1	88845,4569**
R.L. para H d. A2	1	217763,8547**
R.Q. para H d. A2	1	137,8324 ^{ns}
R.C. para H d. A2	1	11494,6892 ^{ns}
D.R. para H d. A2	1	25666,6198 ^{ns}
R.L. para H d. A3	1	220570,7341**
R.Q. para H d. A3	1	61823,7218*
R.C. para H d. A3	1	2597,6024 ^{ns}
D.R. para H d. A3	1	16477,1132 ^{ns}
R.L. para H d. A4	1	326430,3062**
R.Q. para H d. A4	1	33874,4363 ^{ns}
R.C. para H d. A4	1	937,7531 ^{ns}
D.R. para H d. A4	1	15295,2009 ^{ns}
R.L. para H d. A5	1	407767,7930**
R.Q. para H d. A5	1	54859,2326*
R.C. para H d. A5	1	21193,4443 ^{ns}
D.R. para H d. A5	1	12747,7866 ^{ns}
R.L. para A d. H1	1	45,6020 ^{ns}
R.Q. para A d. H1	1	167,0914 ^{ns}
R.C. para A d. H1	1	10969,9280 ^{ns}
D.R. para A d. H1	1	185,3801 ^{ns}
R.L. para A d. H2	1	163361,8501**
R.Q. para A d. H2	1	7710,7008 ^{ns}

^{ns}: não significativo (P > 0,05); * : significativo (P < 0,05); ** : significativo (P < 0,01);
R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; D.R.: desvio da regressão.

Continua...

Continuação...

Tabela 8. Regressão polinomial da massa fresca de folhas (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios
		Massa Fresca de Folhas (mg)
R.C. para A d. H2	1	98336,2880**
D.R. para A d. H2	1	2049,0526 ^{ns}
R.L. para A d. H3	1	156353,0861**
R.Q. para A d. H3	1	113,4044 ^{ns}
R.C. para A d. H3	1	2507,6801 ^{ns}
D.R. para A d. H3	1	26497,6329 ^{ns}
R.L. para A d. H4	1	124409,5380**
R.Q. para A d. H4	1	29529,5175 ^{ns}
R.C. para A d. H4	1	39267,5220*
D.R. para A d. H4	1	3542,1260 ^{ns}
R.L. para A d. H5	1	29445,1380 ^{ns}
R.Q. para A d. H5	1	30558,0357 ^{ns}
R.C. para A d. H5	1	16860,6245 ^{ns}
D.R. para A d. H5	1	4424,0643 ^{ns}
Resíduo	150	9460,7238

^{ns}: não significativo (P > 0,05); * : significativo (P < 0,05); ** : significativo (P < 0,01);
R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; D.R.: desvio da regressão.

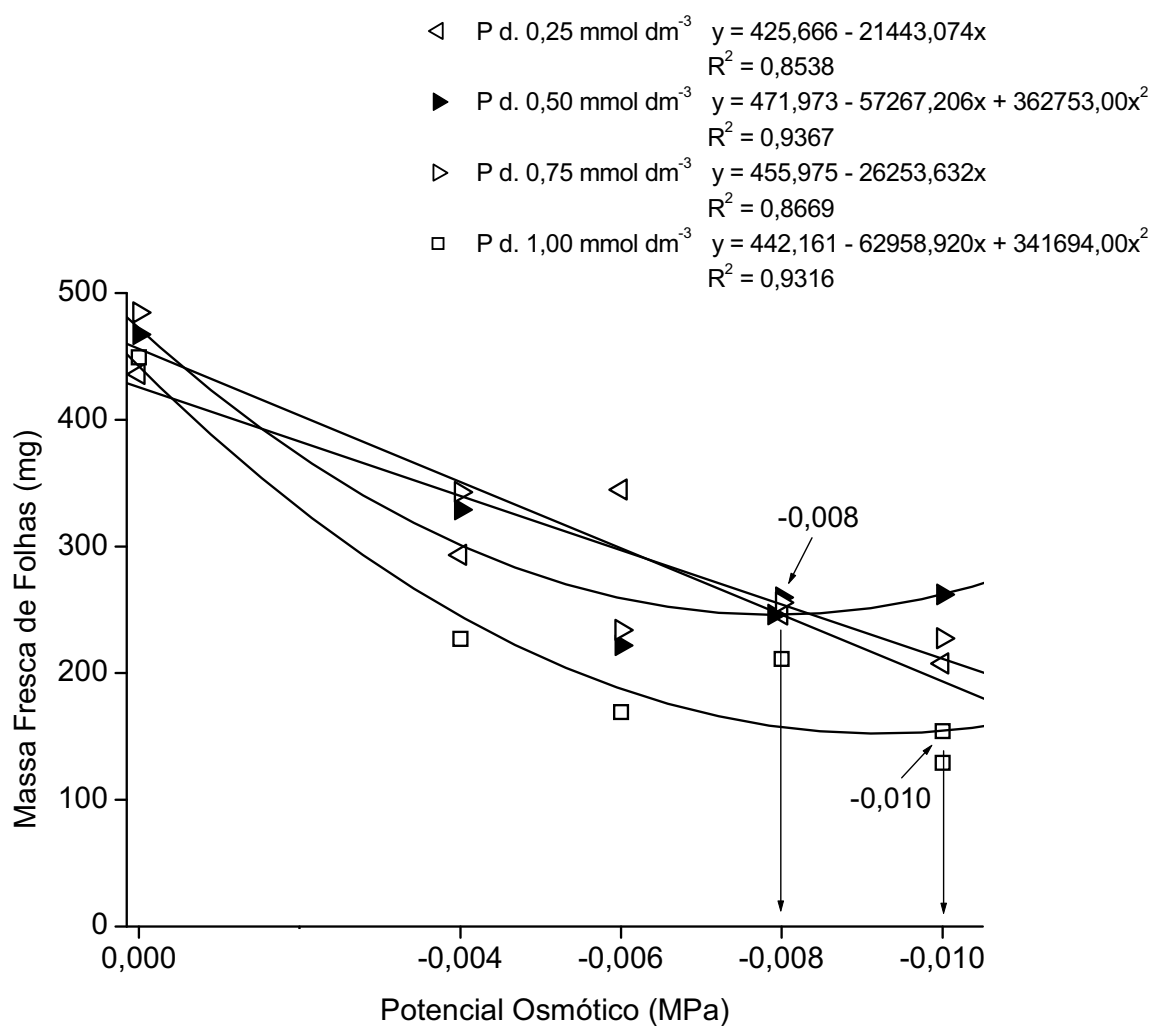


Figura 11. Massa fresca de folhas (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Potenciais osmóticos dentro das concentrações de 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 mmol dm⁻³ de alumínio. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

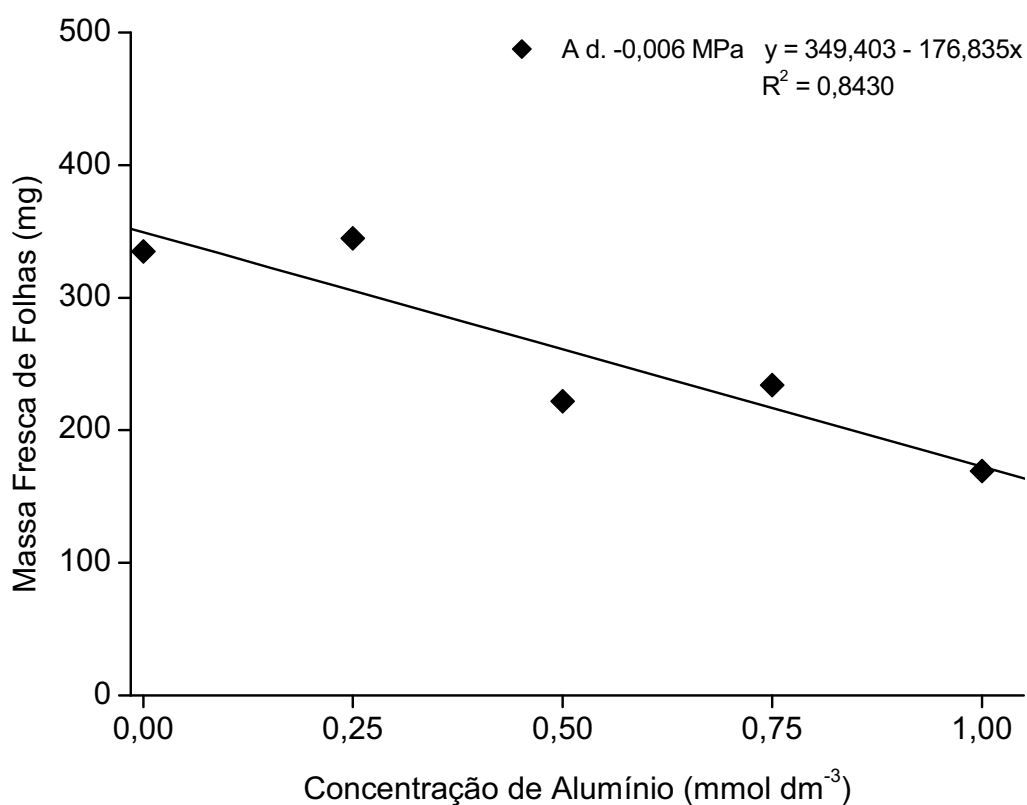


Figura 12. Massa fresca de folhas (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Concentrações de alumínio dentro do potencial osmótico de -0,006 MPa. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Tabela 9. Regressão polinomial da área foliar (dm^2) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios
		Área Foliar (dm^2)
R.L. para H d. A1	1	0,2493**
R.Q. para H d. A1	1	0,0297 ^{ns}
R.C. para H d. A1	1	0,0008 ^{ns}
D.R. para H d. A1	1	0,1227**
R.L. para H d. A2	1	0,2042**
R.Q. para H d. A2	1	0,0019 ^{ns}
R.C. para H d. A2	1	0,0218 ^{ns}
D.R. para H d. A2	1	0,0225 ^{ns}
R.L. para H d. A3	1	0,2804**
R.Q. para H d. A3	1	0,0660*
R.C. para H d. A3	1	0,0057 ^{ns}
D.R. para H d. A3	1	0,0166 ^{ns}
R.L. para H d. A4	1	0,3783**
R.Q. para H d. A4	1	0,0684*
R.C. para H d. A4	1	0,0253 ^{ns}
D.R. para H d. A4	1	0,0073 ^{ns}
R.L. para H d. A5	1	0,4950**
R.Q. para H d. A5	1	0,0462*
R.C. para H d. A5	1	0,0242 ^{ns}
D.R. para H d. A5	1	0,0177 ^{ns}
R.L. para A d. H1	1	0,0019 ^{ns}
R.Q. para A d. H1	1	0,0017 ^{ns}
R.C. para A d. H1	1	0,0187 ^{ns}
D.R. para A d. H1	1	0,0001 ^{ns}
R.L. para A d. H2	1	0,1981**
R.Q. para A d. H2	1	0,0217 ^{ns}

^{ns}: não significativo ($P > 0,05$); * : significativo ($P < 0,05$); ** : significativo ($P < 0,01$);
R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; D.R.: desvio da regressão.

Continua...

Continuação...

Tabela 9. Regressão polinomial da área foliar (dm^2) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios
		Área Foliar (dm^2)
D.R. para A d. H2	1	0,0321 ^{ns}
R.L. para A d. H3	1	0,1207**
R.Q. para A d. H3	1	0,0029 ^{ns}
R.C. para A d. H3	1	0,0038 ^{ns}
D.R. para A d. H3	1	0,0305 ^{ns}
R.L. para A d. H4	1	0,1112**
R.Q. para A d. H4	1	0,0218 ^{ns}
R.C. para A d. H4	1	0,0400 ^{ns}
D.R. para A d. H4	1	0,0001 ^{ns}
R.L. para A d. H5	1	0,0436 ^{ns}
R.Q. para A d. H5	1	0,0419 ^{ns}
R.C. para A d. H5	1	0,0067 ^{ns}
D.R. para A d. H5	1	0,0056 ^{ns}
Resíduo	150	0,0120

^{ns}: não significativo ($P > 0,05$); * : significativo ($P < 0,05$); ** : significativo ($P < 0,01$);
R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; D.R.: desvio da regressão.

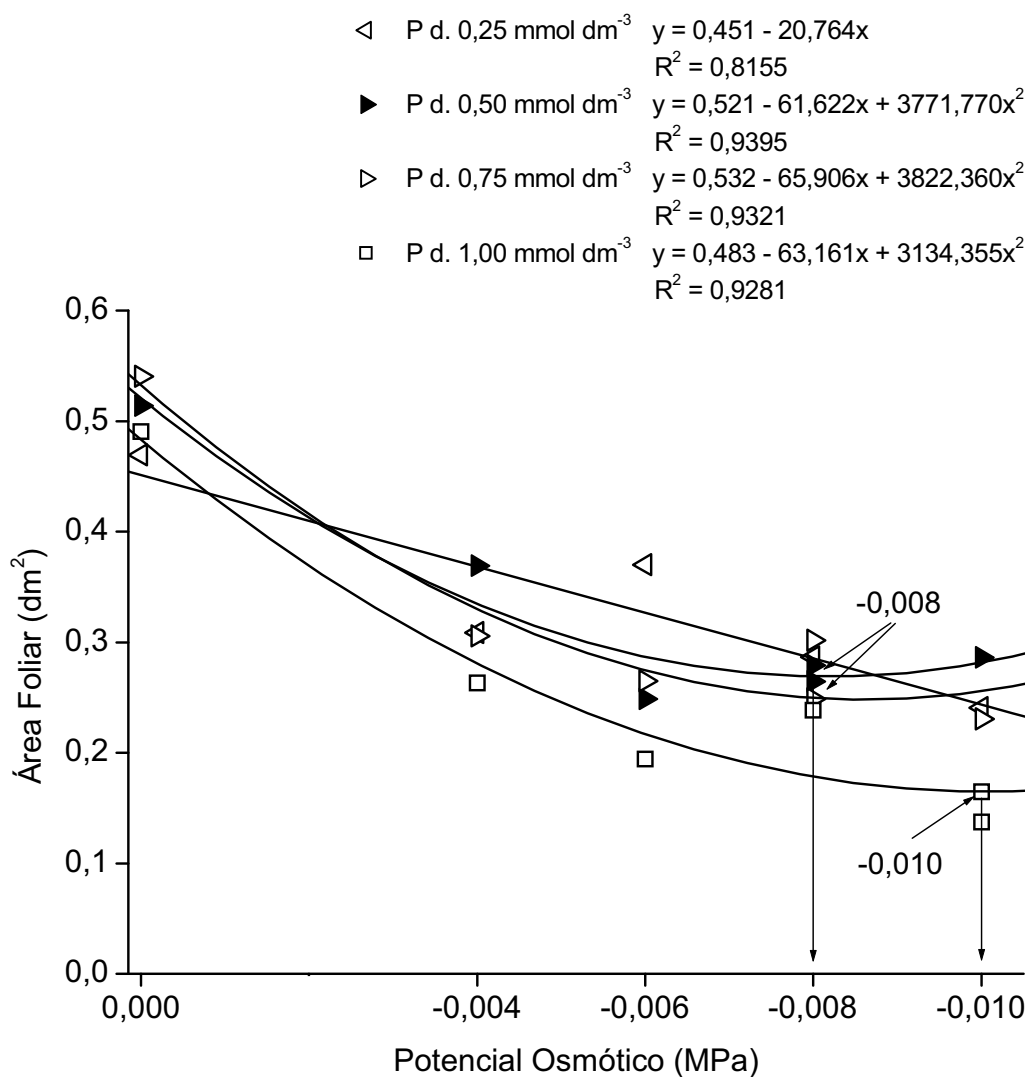


Figura 13. Área foliar (dm²) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Potenciais osmóticos dentro das concentrações de 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 mmol dm⁻³ de alumínio. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

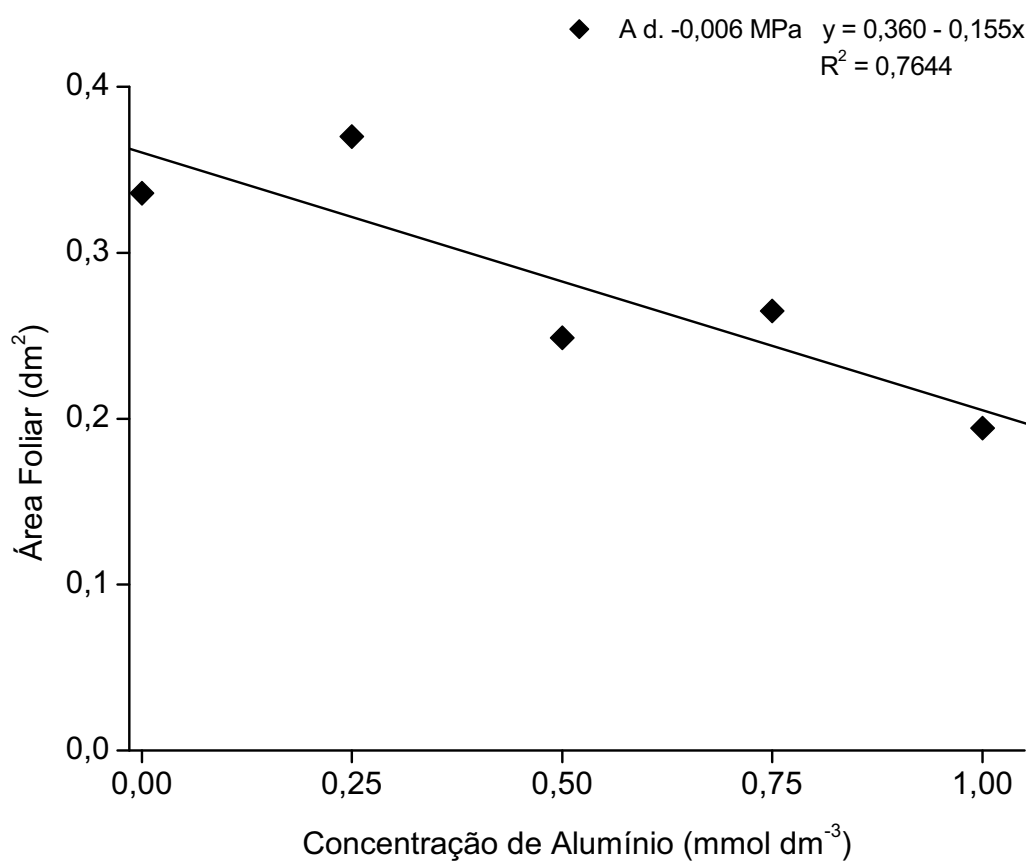


Figura 14. Área foliar (dm²) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Concentrações de alumínio dentro do potencial osmótico de -0,006 MPa. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Tabela 10. Regressão polinomial da massa seca de caules (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios
		Massa Seca de Caules (mg)
R.L. para H d. A1	1	0,2687 ^{ns}
R.Q. para H d. A1	1	405,5973 ^{**}
R.C. para H d. A1	1	8,9831 ^{ns}
D.R. para H d. A1	1	58,6024 ^{ns}
R.L. para H d. A2	1	33,3944 ^{ns}
R.Q. para H d. A2	1	102,6132 ^{ns}
R.C. para H d. A2	1	2,6673 ^{ns}
D.R. para H d. A2	1	35,4612 ^{ns}
R.L. para H d. A3	1	122,7187 ^{ns}
R.Q. para H d. A3	1	9,9999 ^{ns}
R.C. para H d. A3	1	117,0340 ^{ns}
D.R. para H d. A3	1	275,7090 [*]
R.L. para H d. A4	1	422,8762 ^{**}
R.Q. para H d. A4	1	133,3876 ^{ns}
R.C. para H d. A4	1	69,8328 ^{ns}
D.R. para H d. A4	1	1,3374 ^{ns}
R.L. para H d. A5	1	745,9118 ^{**}
R.Q. para H d. A5	1	62,0473 ^{ns}
R.C. para H d. A5	1	10,9418 ^{ns}
D.R. para H d. A5	1	88,8176 ^{ns}
R.L. para A d. H1	1	75,2720 ^{ns}
R.Q. para A d. H1	1	15,6004 ^{ns}
R.C. para A d. H1	1	4,8511 ^{ns}
D.R. para A d. H1	1	9,8580 ^{ns}
R.L. para A d. H2	1	48,9845 ^{ns}
R.Q. para A d. H2	1	9,2575 ^{ns}

^{ns}: não significativo ($P > 0,05$); * : significativo ($P < 0,05$); ** : significativo ($P < 0,01$);
R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; D.R.: desvio da regressão.

Continua...

Continuação...

Tabela 10. Regressão polinomial da massa seca de caules (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios
		Massa Seca de Caules (mg)
D.R. para A d. H2	1	13,4540 ^{ns}
R.L. para A d. H3	1	291,0845*
R.Q. para A d. H3	1	15,7500 ^{ns}
R.C. para A d. H3	1	16,9280 ^{ns}
D.R. para A d. H3	1	284,2875*
R.L. para A d. H4	1	308,5051**
R.Q. para A d. H4	1	53,0751 ^{ns}
R.C. para A d. H4	1	13,4480 ^{ns}
D.R. para A d. H4	1	65,0083 ^{ns}
R.L. para A d. H5	1	330,4845**
R.Q. para A d. H5	1	190,8432*
R.C. para A d. H5	1	8,0011 ^{ns}
D.R. para A d. H5	1	22,8422 ^{ns}
Resíduo	150	44,4016

^{ns}: não significativo (P > 0,05); * : significativo (P < 0,05); ** : significativo (P < 0,01);
R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; D.R.: desvio da regressão.

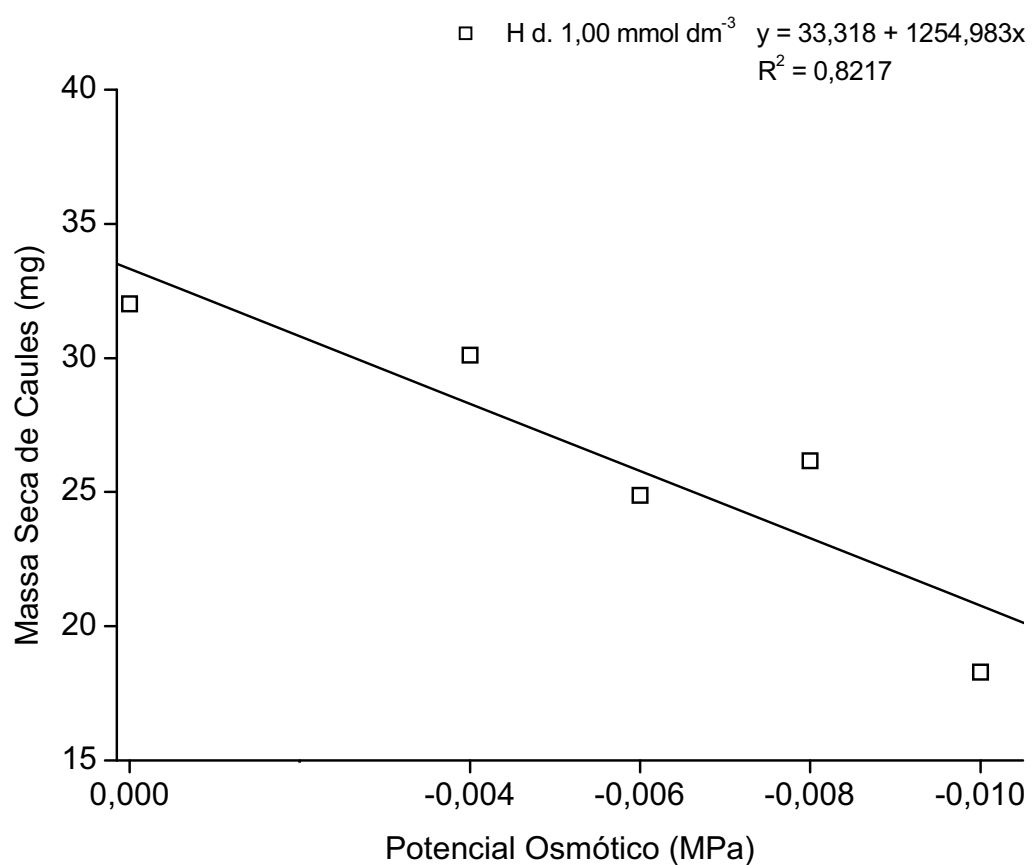


Figura 15. Massa seca de caules (mg) de plantas jovens de guandú, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Potenciais osmóticos dentro da concentração de 1,00 mmol dm⁻³ de alumínio. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

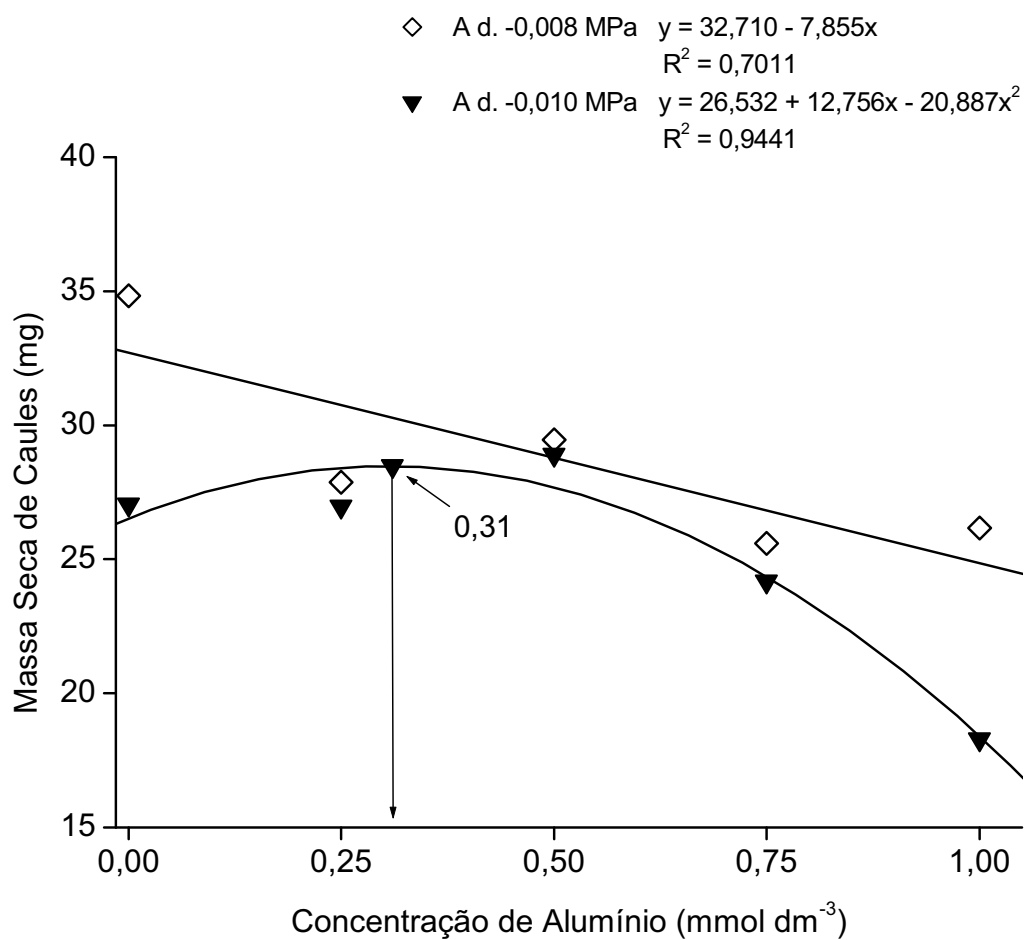


Figura 16. Massa seca de caules (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Concentrações de alumínio dentro dos potenciais osmóticos de -0,008 e -0,010 MPa. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Tabela 11. Regressão polinomial dos teores de prolina livre nas folhas ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de Massa Fresca) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios
		Teores de Prolina Livre nas Folhas ¹ ($\mu\text{mol g}^{-1}$ M.F.)
R.L. para H d. A1	1	42,9234**
R.Q. para H d. A1	1	0,1256 ^{ns}
R.C. para H d. A1	1	4,1529**
D.R. para H d. A1	1	7,8258**
R.L. para H d. A2	1	51,4700**
R.Q. para H d. A2	1	2,8574*
R.C. para H d. A2	1	0,2852 ^{ns}
D.R. para H d. A2	1	2,6753*
R.L. para H d. A3	1	56,7590**
R.Q. para H d. A3	1	0,8420 ^{ns}
R.C. para H d. A3	1	3,9309**
D.R. para H d. A3	1	0,3818 ^{ns}
R.L. para H d. A4	1	41,7756**
R.Q. para H d. A4	1	10,3556**
R.C. para H d. A4	1	1,9785*
D.R. para H d. A4	1	0,0023 ^{ns}
R.L. para H d. A5	1	56,0816**
R.Q. para H d. A5	1	13,8031**
R.C. para H d. A5	1	4,1446*
D.R. para H d. A5	1	0,5756 ^{ns}
R.L. para A d. H1	1	0,0112 ^{ns}
R.Q. para A d. H1	1	0,0113 ^{ns}
R.C. para A d. H1	1	0,0075 ^{ns}
D.R. para A d. H1	1	0,0231 ^{ns}
R.L. para A d. H2	1	15,9467**

¹ Dados de prolina livre nas folhas transformados em $\ln(x+1)$

^{ns}: não significativo ($P > 0,05$); *: significativo ($P < 0,05$); **: significativo ($P < 0,01$);

R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; D.R.: desvio da regressão.

Continua...

Continuação...

Tabela 11. Regressão polinomial dos teores de prolina livre nas folhas ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de Massa Fresca) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios
		Teores de Prolina Livre nas Folhas ¹ ($\mu\text{mol g}^{-1}$ M.F.)
R.C. para A d. H2	1	0,2219 ^{ns}
D.R. para A d. H2	1	0,1689 ^{ns}
R.L. para A d. H3	1	2,7033*
R.Q. para A d. H3	1	0,8096 ^{ns}
R.C. para A d. H3	1	0,4989 ^{ns}
D.R. para A d. H3	1	0,0061 ^{ns}
R.L. para A d. H4	1	7,8494**
R.Q. para A d. H4	1	1,3232 ^{ns}
R.C. para A d. H4	1	7,6416**
D.R. para A d. H4	1	3,3265**
R.L. para A d. H5	1	0,3055 ^{ns}
R.Q. para A d. H5	1	0,0685 ^{ns}
R.C. para A d. H5	1	0,0204 ^{ns}
D.R. para A d. H5	1	2,6433*
Resíduo	150	0,4414

¹ Dados de prolina livre nas folhas transformados em $\ln(x+1)$

^{ns}: não significativo ($P > 0,05$); *: significativo ($P < 0,05$); **: significativo ($P < 0,01$);

R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; D.R.: desvio da regressão.

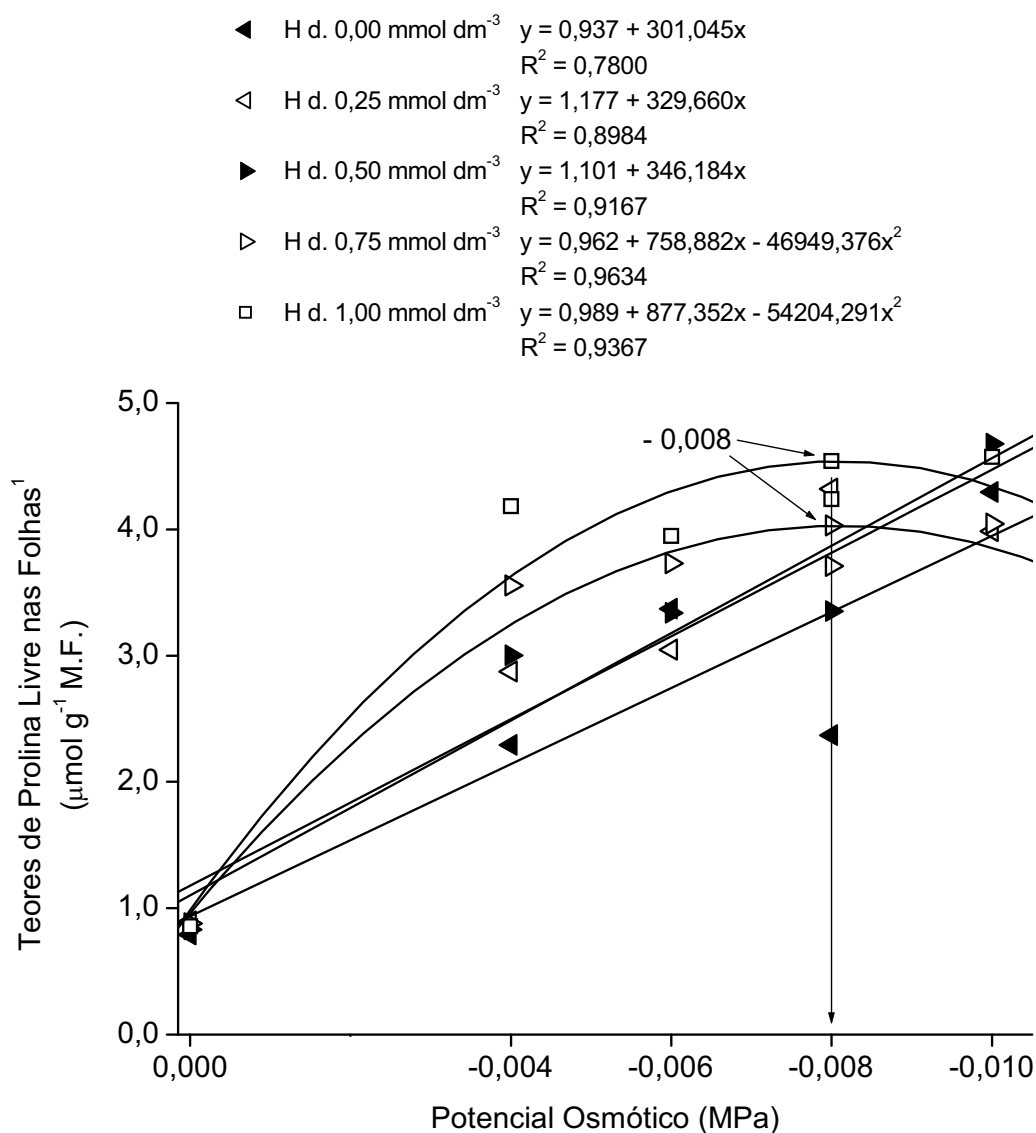


Figura 17. Teores de prolina livre ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de Massa Fresca) nas folhas de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Potenciais osmóticos dentro das concentrações de 0,00; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 mmol dm⁻³ de alumínio. Jaboticabal, SP. 2005-2006. ¹Dados transformados em $\ln(x+1)$.

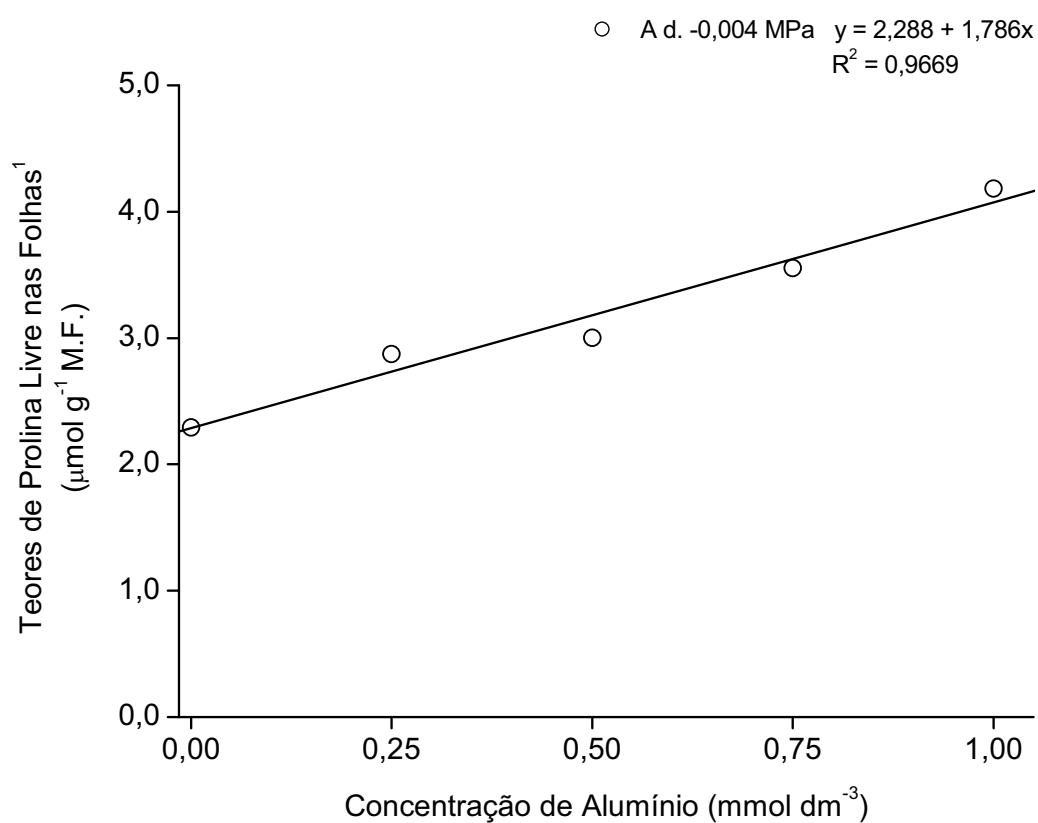


Figura 18. Teores de prolina livre ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de Massa Fresca) nas folhas de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Concentrações de alumínio dentro do potencial osmótico de -0,004 MPa. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

¹Dados transformados em $\ln(x+1)$.

aumento do estresse hídrico até -0,008 MPa. Porém, somente em -0,004 MPa houve significativo aumento dos teores de prolina (178,1%) com o aumento das concentrações de alumínio até $1,00 \text{ mmol dm}^{-3} \text{ Al}^{3+}$ (Tabela 11 e Figura 18). O efeito associado do estresse hídrico e alumínio promoveu o acúmulo de prolina na parte aérea de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga (MARIN et al., 2006). Em outra leguminosa forrageira, feijão-mungo, verificou-se que a elevada concentração de alumínio (10 mM) reduziu o conteúdo relativo de água nas folhas, conseqüentemente, houve acúmulo de prolina o qual foi atribuído à diminuição da absorção de água devido aos efeitos deletérios causados pelo alumínio no sistema radicular (ALI et al., 2008).

O principal sintoma da toxidez provocada pelo alumínio é a inibição do crescimento das raízes, causado pela inibição do alongamento celular, devido às injúrias que ocorrem no ápice radicular (Bennet & Breen, 1993 citados por MARIN, 2003). Nos resultados do presente trabalho, houve redução de 33,1% na densidade de raízes em ambas cultivares até $0,71 \text{ mmol dm}^{-3} \text{ Al}^{3+}$ (Tabela 12 e Figura 19).

Os efeitos da toxidez do alumínio na cultura do guandu são notados principalmente no sistema radicular, resultando em um desenvolvimento pouco vigoroso, com engrossamento e coloração dos tecidos anormais (NARAYANAN & SYAMALA, 1989). De um modo geral, a partir de 10 mg dm^{-3} , verificou-se redução no crescimento do sistema radicular de 30 genótipos de guandu, todavia, os resultados não foram similares, pois dependendo da resposta do genótipo podem-se classificar as plantas de guandu como sensíveis, moderadamente sensíveis e tolerantes à acidez (NARAYANAN & SYAMALA, 1989).

Em solo com $2,0 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ de alumínio, também, houve significativa redução da densidade de raízes de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (MARIN, 2003). Os primeiros efeitos do alumínio em processos metabólicos podem ser observados poucos minutos após a indução do estresse, os quais são seguidos de efeitos secundários que aparecem depois de várias horas ou dias. As células da zona distal de transição, situadas entre 1 e 2 mm do ápice radicular que se dividiram, mas ainda não iniciaram o processo de expansão são mais sensíveis à toxidez do alumínio (KOLLMEIER et al., 2000).

Tabela 12. Regressão polinomial da densidade de raízes (mm cm^{-3} de solução nutritiva) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios
		Densidade de Raízes (mm cm^{-3} S. N. ¹)
R.L. para H d. A1	1	0,2647*
R.Q. para H d. A1	1	0,0002 ^{ns}
R.C. para H d. A1	1	0,1145 ^{ns}
D.R. para H d. A1	1	0,0342 ^{ns}
R.L. para H d. A2	1	0,4153**
R.Q. para H d. A2	1	0,0294 ^{ns}
R.C. para H d. A2	1	0,0905 ^{ns}
D.R. para H d. A2	1	0,3446*
R.L. para H d. A3	1	0,0025 ^{ns}
R.Q. para H d. A3	1	0,0026 ^{ns}
R.C. para H d. A3	1	0,1507 ^{ns}
D.R. para H d. A3	1	0,0001 ^{ns}
R.L. para H d. A4	1	0,1595 ^{ns}
R.Q. para H d. A4	1	0,6497**
R.C. para H d. A4	1	0,3627*
D.R. para H d. A4	1	0,0104 ^{ns}
R.L. para H d. A5	1	0,1231 ^{ns}
R.Q. para H d. A5	1	0,0001 ^{ns}
R.C. para H d. A5	1	0,0469 ^{ns}
D.R. para H d. A5	1	0,2644*
R.L. para A d. H1	1	0,5831**
R.Q. para A d. H1	1	0,2790*
R.C. para A d. H1	1	0,2060 ^{ns}
D.R. para A d. H1	1	0,0001 ^{ns}
R.L. para A d. H2	1	0,0084 ^{ns}

^{ns}: não significativo ($P > 0,05$); * : significativo ($P < 0,05$); ** : significativo ($P < 0,01$);

R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; D.R.: desvio da regressão.

¹ mm cm^{-3} S.N. = mm cm^{-3} de Solução Nutritiva de Clark

Continua...

Continuação...

Tabela 12. Regressão polinomial da densidade de raízes (mm cm^{-3} de solução nutritiva) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios
		Densidade de Raízes (mm cm^{-3} S. N. ¹)
R.Q. para A d. H2	1	0,0003 ^{ns}
R.C. para A d. H2	1	0,0231 ^{ns}
D.R. para A d. H2	1	0,0291 ^{ns}
R.L. para A d. H3	1	0,4805**
R.Q. para A d. H3	1	0,0567 ^{ns}
R.C. para A d. H3	1	0,0690 ^{ns}
D.R. para A d. H3	1	0,4274**
R.L. para A d. H4	1	0,0423 ^{ns}
R.Q. para A d. H4	1	0,0558 ^{ns}
R.C. para A d. H4	1	0,4249**
D.R. para A d. H4	1	0,1437 ^{ns}
R.L. para A d. H5	1	0,0878 ^{ns}
R.Q. para A d. H5	1	0,0333 ^{ns}
R.C. para A d. H5	1	0,0263 ^{ns}
D.R. para A d. H5	1	0,1832 ^{ns}
Resíduo	150	0,0564

^{ns}: não significativo ($P > 0,05$); * : significativo ($P < 0,05$); ** : significativo ($P < 0,01$);

R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; D.R.: desvio da regressão.

¹ mm cm^{-3} S.N. = mm cm^{-3} de Solução Nutritiva de Clark

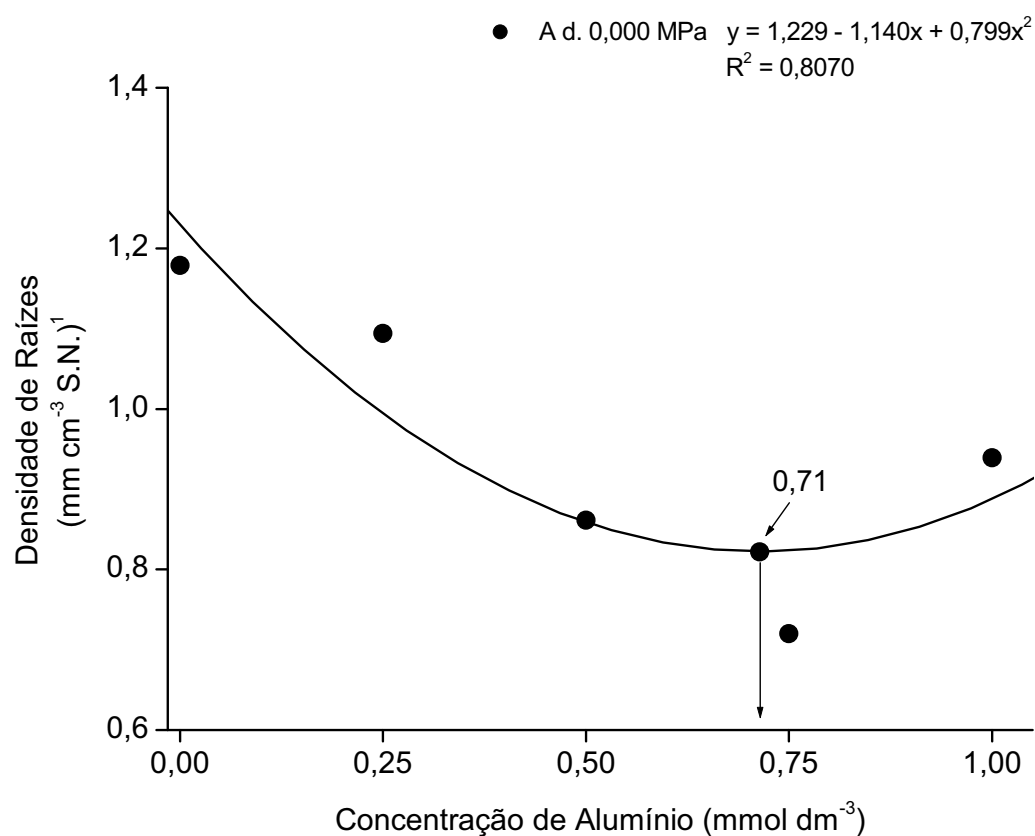


Figura 19. Densidade de raízes (mm cm⁻³ S.N.) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006. ¹mm cm⁻³ S.N. = mm cm⁻³ de Solução Nutritiva de Clark.

A parede celular das células desta região acumula alumínio muito mais rápido devido à alta proporção de pectina comparada às células radiculares mais distantes do ápice, neste caso o alumínio liga-se à parede celular e desloca o cálcio da fração pectica inibindo a extensão da parede celular (CIAMPOROVA, 2002).

Além do acúmulo do alumínio na parede celular, o alumínio liga-se, fortemente, na membrana plasmática que tem sua estabilidade dependente também de íons Ca^{2+} que se ligam a proteínas e resíduos de pectina carregados negativamente na parede celular. O Ca^{2+} também pode se acumular na camada aquosa difusa adjacente à superfície da membrana, onde pode se ligar a grupos carregados dos fosfolípidios e proteínas da membrana (KAUSS, 1987), essas ligações com o Ca^{2+} determinam a rigidez da membrana, de tal modo que a remoção do Ca^{2+} pelo alumínio desestabiliza a membrana plasmática (HEPLER, 2005). O Al^{3+} pode deslocar o Ca^{2+} da membrana plasmática por competição pelos ligantes (RENGEL, 1992) ou por reduzir a diferença de potencial negativa na superfície da membrana (KINRAIDE et al., 1992).

O dendrograma resultante da análise de agrupamentos dos tratamentos utilizados (Figura 20) demonstra, nitidamente, a existência de dois grupos, sendo o Grupo 1 caracterizado pela cv. IAC Fava Larga (F) e o Grupo 2 caracterizado pela cv. IAPAR 43-Aratã (Ar). Ressalta-se que não houve influência tanto do estresse hídrico (H) quanto das concentrações de alumínio (A) na formação dos grupos, pois ambos os tratamentos aparecem indistintamente nos grupos formados pelas cultivares (Figura 20).

No conjunto das avaliações fisiológicas massa fresca de folhas, massa seca de caules, área foliar e teores de prolina livre nas folhas, considerando todas as médias das combinações de tratamentos utilizados, a análise de componentes principais possibilitou a construção do gráfico bidimensional (Figura 21). Os dois primeiros eixos, Componente Principal 1, na posição horizontal (CP1), e Componente Principal 2, na posição vertical (CP2), são os que retêm maior quantidade de informação do conjunto original das avaliações fisiológicas, tendo neste estudo acumulado 95,42%, isto é 74% no CP1 e 21,42% no CP2 (Tabela 13).

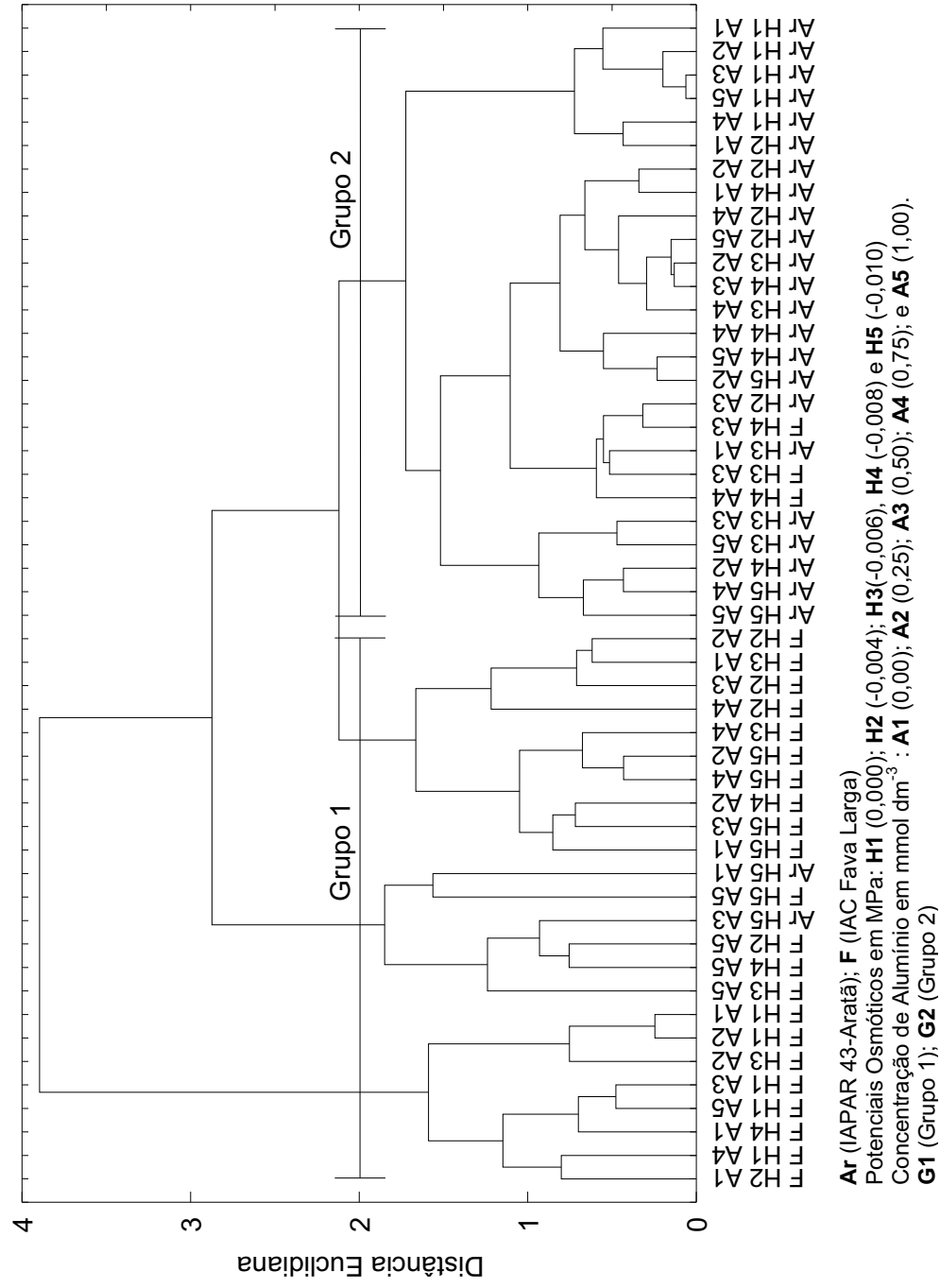


Figura 20. Dendrograma da análise de agrupamento para massa fresca de folhas (mg), massa seca de caules (mg), área foliar (dm²) e teores de prolina livre nas folhas (μmol.g⁻¹ M.F.) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Tabela 13. Análise multivariada de componentes principais para massa fresca de folhas (mg), massa seca de caules (mg), área foliar (dm²) e teores de prolina livre nas folhas (μmol.g⁻¹ M.F.) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Dados da Análise Multivariada de Componentes Principais		
	CP1	CP2
Porcentagem acumulada	74,00	95,42
Correlação entre características fisiológicas e os componentes principais		
	CP1	CP2
Massa Fresca de Folhas (mg)	-0,99	-0,03
Massa Seca de Caules (mg)	-0,83	-0,48
Área Foliar (dm ²)	-0,98	-0,04
Prolina (μmol g ⁻¹ M.F. ⁽¹⁾)	0,59	-0,79

CP1: Componente Principal 1

CP2: Componente Principal 2

¹ μmol g⁻¹ M.F. = μmol g⁻¹ de Massa Fresca

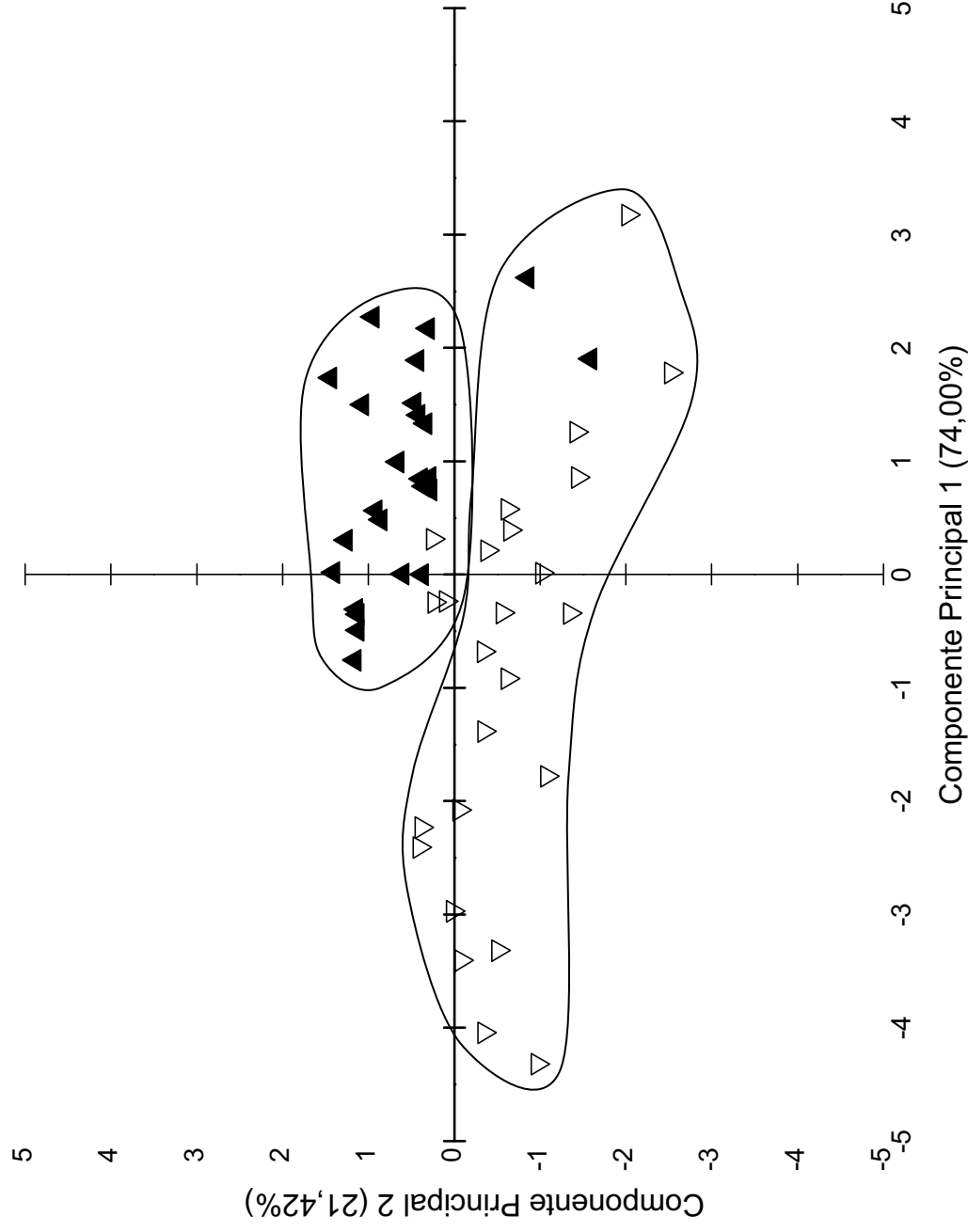


Figura 21. Distribuição das cultivares IAPAR 43-Aratã (▲) e IAC Fava Larga (▽), nos componentes principais 1 e 2, sob efeito sinérgico do estresse hídrico (H) e da toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.
 CP1 = 74,00% (porcentagem acumulada no CP1, vide Tabela 13), CP2 = 21,42% (porcentagem acumulada no CP2 subtraída a porcentagem acumulada no CP1 (95,42-74,00=21,42%, vide Tabela 13).

Desta forma, considerando a alta correlação negativa das avaliações de massa fresca de folhas (-0,99), massa seca de caules (-0,83) e área foliar (-0,98) com o eixo CP1 e dos teores de prolina livre nas folhas (-0,79) com o eixo CP2 (Tabela 13), verificou-se que a cv. IAC Fava Larga localizada, predominantemente, nas posições negativas (esquerda) no eixo CP1 tende a apresentar valores maiores de massa fresca de folhas, massa seca de caules e área foliar comparada à cv. IAPAR 43-Aratã, localizada nas posições positivas (direita) do eixo (Figura 21). Com relação ao eixo CP2, observa-se que o maior acúmulo de prolina nas folhas está correlacionado com a cv. IAC Fava Larga que, predominantemente, localiza-se nas posições negativas (abaixo) no eixo comparado à cv. IAPAR 43-Aratã, localizada nas posições positivas (acima) no eixo CP2.

O maior crescimento e acúmulo de prolina sob deficiência hídrica e toxidez do alumínio tem alta correlação com a cv. IAC Fava Larga demonstrando, provavelmente, maior tolerância aos estresses nas condições experimentais do presente trabalho. De fato, no estudo dos efeitos da disponibilidade hídrica e da acidez do solo no crescimento inicial e nos teores de prolina de guandu, IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga (MARIN, 2003), a análise de componentes principais possibilitou inferir maior desenvolvimento da cultivar IAC Fava Larga, inclusive sob restrição hídrica severa (20%), porque houve maior acúmulo de prolina livre, corroborando com os resultados do presente trabalho.

V. CONCLUSÕES

- ✓ A deficiência hídrica reduz o crescimento da parte aérea, enquanto que a toxidez do alumínio diminui o crescimento das raízes.
- ✓ A deficiência hídrica aumenta os teores de prolina livre nas folhas da cv. IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga.
- ✓ A toxidez do alumínio provoca aumento nos teores de prolina apenas na cv. IAC Fava Larga.
- ✓ A alta correlação para o crescimento e para o aumento nos teores de prolina livre na cv. IAC Fava Larga, é indicativo da provável tolerância desta cultivar ao efeito sinérgico do estresse hídrico e da toxidez do alumínio.

VI. REFERÊNCIAS

ABDUL JALEEL, C.; MANIVANNAN, P.; KISHOREKUMAR, A.; SANKAR, B; GOPI, R.; SOMASUNDARAM, R.; PANEERSELVAM, R. Alterations in osmoregulations, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 59, n. 2, p. 150-157, 2007.

ALCÂNTARA, P. B.; BUFARAH, G. **Plantas forrageiras**: gramíneas & leguminosas. 4. ed. São Paulo: Nobel, 1988. 162 p.

ALEXIEVA, V.; IVANOV, S.; SERGIEV, I.; KARANOV, E. Interaction between stresses. In: EUROPEAN WORKSHOP ON ENVIRONMENTAL STRESS AND SUSTAINABLE AGRICULTURE, 2002, Varna. **Proceedings...**, Varna: INSTITUTE OF PLANT PHYSIOLOGY, BULGARIAN ACADEMY OF SCIENCES, 2003. p. 1-17.

ALI, B.; HASAN, S. A.; HAYAT, S.; HAYAT, Q.; YADAV, S.; FARIDUDDIN, Q.; AHMAD, A. A role for brassinosteroids in the amelioration of aluminium stress through antioxidant system in mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek). **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 62, n. 2, p. 153-159, 2008.

ALVES, S. M. C.; ABOUD, A. C. S.; RIBEIRO, R. L. D.; ALMEIDA, D. L. Balanço do nitrogênio e fósforo em solo com cultivo orgânico de hortaliças após a incorporação de biomassa de guandu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 11, p. 1111-1117, 2004.

ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 59, n. 2, p. 206-216, 2007.

ASPINALL, D.; PALEG, L. G. Proline accumulation: Physiological aspects. In: PALEG, L. G.; ASPINALL, D. (Org.). **The physiology and biochemistry of drought resistance in plants**. Sydney: Academic Press, 1981. p. 215-228.

AZEVEDO, R. L.; RIBEIRO, G. T.; AZEVEDO, C. L. L. Feijão guandu: uma planta multiuso. **Revista da Fapese**, Aracaju, v. 3, n. 2, p. 81-86, 2007.

BALAKRISHNAN, K.; NATARAJARATNAM, N. Growth analysis in pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) as influenced by date of sowings. **Madras Agricultural Journal**, Coimbatore, v. 76, n. 1, p. 35-39, 1989.

BALAKRISHNAN, K.; NATARAJARATNAM, N.; ARJUNAN, A. Time trend changes of growth components in pigeonpea. **Madras Agricultural Journal**, Coimbatore, v. 79, n. 9, p. 528-530, 1992.

BALASUBRAMANIAN, V. B.; VENKATESWARLU, S. Dry matter production, leaf area index and growth rates of short and long duration intercrops. **Indian Journal of Plant Physiology**, New Delhi, v. 32, n. 1, p. 06-11, 1989.

BALLANTYNE, J. S.; CHAMBERLIN, M. E. Regulation of cellular amino acid levels. In: STRANGE, K. (Org.). **Cellular and molecular physiology of cell volume regulation**. Boca Raton: CRC Press, 1994. p.111-122.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237 p.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Plant water relations as affected by heavy metal stress: a review. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 13, n. 1, p. 01-37, 1990.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Fast root growth responses, root exudates and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: a review. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 48, n. 1, p. 75-92, 2002.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C.; VÁZQUEZ, M. D.; GUNSE, B. Aluminum phytotoxicity. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, The Hague, v. 43, n. 1-3, p. 217-223, 1996.

BARTELS, D.; SOUER, E. Molecular responses of higher plants to dehydration. In: HIRT, H.; SHINOZAKI, K. (Org.). **Topics in current genetics**: Plant responses to abiotic stress, 4 v. Berlin: Springer-Verlag, 2004. p. 09-38.

BATALHA, L. E. Nenhum país tem a pecuária que nós temos. **Página Rural**, Porto Alegre, ago. 2003. Disponível <http://www.paginarural.com.br/artigos_detalhes.php?id=674>. Acesso em 26 out. 2005.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**, The Hague, v. 39, n. 1, p. 205-207, 1973.

BEGUM, S.; PRODHAN, A. K. M. Anatomy of the root of pigeonpea (*Cajanus cajan*). **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Pakistan, v. 6, n. 15, p. 1296-1303, 2003.

BENNET, R. J.; BREEN, C. M. Aluminum toxicity: towards an understanding of how plant roots react to physical environment. In: RANDALL, P. J. (Org.). **Genetic aspects of plant mineral nutrition**. Dordrecht: Kluwer Academic Press, 1993. p. 103-116.

BENNET, R. J.; BREEN, C. M.; FEY, M. V. The effects of aluminium on root cap function and root development in *Zea mays* L. **Environment and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 27, p. 91-104, 1987.

BENNETT, W. F. **Nutrient deficiencies & toxicities in crop plants**. 3. ed. Saint Paul: APS Press, 1996. 202 p.

BLUM, A. Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 20, n. 2, p. 135-148. 1996.

BOHNEN, H. Acidez e calagem. In: GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; TEDESCO, M. J. (Org.). **Princípios de fertilidade de solo**. Porto Alegre: Departamento de Solos da Faculdade de Agronomia, UFRGS, 1995. p. 51-76.

BOHRINGER, A.; TAMO, M.; DREYER, H. M. Growth and productivity of pigeonpea (*Cajanus cajan*) genotypes for use in alley cropping and their interactions with the environment. **Experimental Agriculture**, Cambridge, v. 30, n. 2, p. 207-215, 1994.

BONAMIGO, L. A. Recuperação de pastagens com guandu em sistema de plantio direto. **Informações Agrônomicas**, n. 88, dez. 1999. Disponível em: <[http://www.ipni.org.br/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/d5fbc829a2f54298832569f8004695c5/\\$FILE/Encarte%2088.pdf](http://www.ipni.org.br/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/d5fbc829a2f54298832569f8004695c5/$FILE/Encarte%2088.pdf)>. Acesso em: 10 jan. 2008.

BRAKKE, M. P.; GARDNER, F. P. Juvenile growth in pigeonpea, soybean and cowpea in relation to seed and seedling characteristics. **Crop Science**, Madison, v. 27, n. 2, p. 311-316, 1987.

BRAY, E. A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stresses. In: BUCHANNAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (Org.). **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. p. 1158-1249.

BURSENS, S.; HIMANEN, K.; Van de COTTE, B.; BEECKMAN, T.; Van MONTAGU, M.; INZÉ, D.; VERBRUGGEN, N. Expression of cell cycle regulatory genes and morphological alterations in response to salt stress in *Arabidopsis thaliana*. **Planta**, Berlin, v. 211, n. 5, p. 632-640, 2000.

CÁCERES, N. T.; ALCARDE, J. C. Adubação verde com leguminosas em rotação com cana-de-açúcar (*Saccharum* spp). **STAB**, Piracicaba, v. 13, n. 5, p. 16-20, 1995.

CAIRES, E. F.; GARBUIO, F. J.; CHURKA, S.; BARTH, G.; CORRÊA, J. C. L. Effects of soil acidity amelioration by surface liming on no-till corn, soybean, and wheat root growth and yield. **European Journal of Agronomy**, Bologna, v. 28, n. 1, p. 57-64, 2008.

CAMBRAIA, J.; GOMES, M. M. S.; SANT'ANNA, R.; ESTEVÃO, M. M. Efeito de diferentes níveis de alumínio na solução nutritiva sobre a composição da fração nitrogenada em sorgo. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campinas, v. 2, n. 2, p. 47-52, 1990.

CAMBRI, M. A. **Calagem e formas de alumínio em três localidades sob sistema de plantio direto**. 2004. 83 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

CHEN, L-S. Physiological responses and tolerance of plant shoot to aluminum toxicity. **Journal of Plant Physiology and Molecular Biology**, Shanghai, v. 32, n. 2, p. 143-155, 2006.

CIAMPOROVA, M. Morphological and structural responses of plant roots to aluminium at organ, tissue, and cellular levels. **Biologia Plantarum**, Praga, v. 45, n. 2, p. 161-171, 2002.

CLARK, R. B. Effect of aluminum on growth and mineral elements of Al-tolerant and Al-intolerant corn. **Plant and Soil**, The Hague, v. 47, n. 3, p. 653-662, 1977.

COAN, L. F. B.; SENA C.; BIANCO, D.; LICHTENBERG, P. S. F.; MILLER, P. R. M.; PEREIRA, A. A. A.; COMIM, J. J. Recuperação de área degradada por construção de rodovia na praia mole, Florianópolis, SC. **EXTENSIO – Revista Eletronica de Extensão**, Florianópolis, mai. 2004. Disponível em: <http://www.extensio.ufsc.br/20041/artigos_pdfs/CCA_Jucinei_Comin.pdf> Acesso em: 05 jan. 2005.

COSSOLINI, P. C. **Influência do alumínio na germinação e no crescimento de duas cultivares de guandu** (*Cajanus cajan* (L.) Millsp., Fabaceae). 2000. 98 f. Monografia (Trabalho de Graduação em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2000.

COSTA, N. L.; TOWNSEND, C. R.; MAGALHÃES, J. A.; PEREIRA, R. G. A. Formação e manejo de pastagens de guandu em Rondônia. **Recomendações Técnicas**, Porto Velho, n. 23, 2001. 2 p. (RT/23, EMBRAPA-CPAF).

CREPANI, E.; MEDEIROS, J. S.; HERNANDEZ FILHO, P.; FLORENZANO, T. G.; DUARTE, V.; BARBOSA C. C. F. **Sensoriamento remoto e geoprocessamento aplicados ao zoneamento ecológico-econômico e ao ordenamento territorial**.

Ministério da Ciência e Tecnologia: Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. São José dos Campos, jun. 2001. Disponível em: <<http://www.dsr.inpe.br/dsr/simeao/publicacoes/sergiszee3.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2008.

DAKORA, F. D. Defining new roles for plant and rhizobial molecules in sole and mixed plant cultures involving symbiotic legumes. **New Phytologist**, Cambridge, v. 158, n. 1, p. 39-49, 2003.

DEGENHARDT, J.; LARSEN, P. B.; HOWELL, S. H.; KOCHIAN, L. V. Aluminum resistance in the *Arabidopsis* mutant *alr-104* is caused by an aluminum-induced increase in rhizosphere pH. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 117, n. 1, p. 19-27, 1998.

DELAUNEY, A. J.; VERMA, D. P. S. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. **The Plant Journal**, Heslington, v. 4, n. 2, p. 215-223. 1993.

DELHAIZE, E.; RYAN, P. R. Aluminum toxicity and tolerance in plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 107, n. 2, p. 315-321, 1995.

DEUSCHLE, K.; FUNCK, D.; FORLANI, G.; STRANSKY, H.; BIEHL, A.; LEISTER, D.; van der GRAFF, E.; KUNZE, R.; FROMMER, W. B. The role of delta1-pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase in proline degradation. **Plant Cell**, Rockville, v. 16, n. 12, p. 3413-3425, 2004.

DRENNAN, P. M.; SMITH, M. T.; GOLDSWORTH, D.; van STADEN, J. The occurrence of trehalose in the leaves of the desiccation-tolerant angiosperm *Myrothamnus flabellifolius* Welw. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 142, n. 4, p. 493-496, 1993.

DRISCOLL, C. T.; SCHECHER, W. D. Aluminium in the environment. In: SIEGEL, M.; SIEGEL, A. (Org.). **Metal ions in biological systems: Aluminium and its role in biology**. Basel: Marcel Dekker, 1988. v. 24, p. 59-122.

ECHART, C. L.; CAVALLI-MOLINA, S. Aluminum phytotoxicity: effects, tolerance mechanisms and its genetic control. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 531-541, 2001.

EPSTEIN, E. **Nutrição mineral das plantas: princípios e perspectivas**. São Paulo: EDUSP, 1974. 335 p.

EXLEY, C. The pro-oxidant activity of aluminum. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 38, n. 2, p. 294, 2005.

FAHL, J. I.; CARELLI, M. L. C.; DEUBER, R.; NOGUEIRA, S. S. S.; HIROCE, R. Influência do alumínio no crescimento e na nutrição mineral de cultivares de arroz. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 6, p. 203-208, 1982.

FAHL, J. I.; HIROCE, R.; CARELLI, M. L. C.; CASTRO, J. L. de. Efeitos do alumínio na nutrição, desenvolvimento e produção de cultivares de batatinha (*Solanum tuberosum* L.). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 4, p. 22-26, 1980.

FAVORETTO, V.; PAULA, G. H.; MALHEIROS, E. B.; GUIDELI, C. Produção e qualidade de forragem aproveitável de cultivares de guandu durante o período seco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 7, p. 1009-1015, 1995.

FOY, C. D.; CHANEL, R. L.; WRITE, M. C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 29, p. 511-566, 1978.

FUENTE-MARTINÉZ, J. M.; HERRERA-ESTRELLA, L. Advances in the understanding of aluminum toxicity and the development of aluminum-tolerant transgenic plants. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 66, p. 103-120, 1999.

FURLANI, A. M. C.; BATAGLIA, O. C.; LIMA, M. Eficiência de linhagens de milho na absorção e/ou utilização de fósforo, a baixo nível, em solução nutritiva. **Bragantia**, Campinas, v. 44, n. 2, p. 129-147, 1985.

GIANNAKOULA, A.; MOUSTAKAS, M.; MYLONA, P.; PAPADAKIS, I.; YUPSANIS, T. Aluminum tolerance in maize is correlated with increased levels of mineral nutrients, carbohydrates and proline, and decreased levels of lipid peroxidation and Al accumulation. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 165, n. 4, p. 385-396, 2008.

GUBIŠ, J.; VAŇKOVÁ, R.; ČERVENÁ, V.; DRAGÚŇOVÁ, M.; HUDCOVICOVÁ, M.; LICHTNEROVÁ, H.; DOKUPIL, T.; JUREKOVÁ, Z. Transformed tobacco plants with increased tolerance to drought. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 73, n. 4, p. 505-511, 2007.

GUO, T. R.; ZHANG, G. P.; ZHOU, M. X.; WU, F. B.; CHEN, J. X. Influence of aluminum and cadmium stresses on mineral nutrition and root exudates in two barley cultivars. **Pedosphere**, Nanjing, v. 17, n. 4, p. 505-512, 2007.

HAMIDOU, F.; ZOMBRE, G.; DOIUF, O.; DIOP, N. N.; GUINKO, S.; BRACONNIER, S. Physiological, biochemical and agromorphological responses of five cowpea genotypes (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) to water deficit under glasshouse conditions. **Biotechnology, agronomy, society and environment**, Glemboux, v. 11, n. 3, p. 225-234, 2007.

HARDEGREE, S. P.; EMMERICH, W. E. Seed germination in response to polyethylene glycol solution. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 22, p. 01-07, 1994.

HARE, P. D.; CRESS, W. A. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 21, p. 79-102, 1997.

HARE, P. D.; CRESS, W. A.; van STADEN, J. Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-related signal transduction. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 50, n. 333, p. 413-434, 1999.

HARRIS, G. A.; CAMPBELL, G. S. Automated quantification of roots using a simple image analyser. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, p. 935-938, 1989.

HASEGAWA, P. M.; BRESSAN, R. A.; ZHU, J. K.; BOHNERT, H. J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 51, p. 463-499, 2000.

HAYNES, R. J. Competitive aspects of the grass legume association. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 33, p. 227-261, 1980.

HEPLER, P. K. Calcium: a central regulator of plant growth and development. **Plant Cell**, Rockville, v. 17, n. 8, p. 2142-2155, 2005.

HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINA, E. A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 6, n. 9, p. 431-438, 2001.

HONGBO, S.; ZONGSUO, L.; MINGAN, S. Osmotic regulation of 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at soil water deficits. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 47, n. 2, p. 132-139, 2006.

HSIAO, T. C. Plant responses to water stress. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 24, p. 519-570, 1973.

HU, C. A. A.; LIN, W. W.; VALLE, D. Cloning, characterization and expression of cDNAs encoding human D1-pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 271, n. 16, p. 9795-9800, 1996.

HUE, N. V.; CRADDOCK, G. R.; ADAMS, F. Effect of organic acids on aluminum toxicity in subsoils. **Soil Science Society of America**, Madison, v. 50, n. 1, p. 28-34, 1986.

IKEDA, H.; TADANO, T. Ultrastructural changes of the root tip cells in barley induced by a comparatively low concentration of aluminum. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 39, n. 1, p. 109-117, 1993.

ILLÉS, P.; SCHLICHT, M.; PAVLOVKIN, J.; LICHTSCHEIDL, I.; BALUSKA, F.; OVECKA, M. 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. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 15, p. 4201-4213, 2006.

INGRAN, J.; BARTELS, D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 47, p. 377-403, 1996.

INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS - IAC. **Guandu IAC Fava Larga**. Campinas, 1989. Não paginado. (Boletim Técnico).

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ - IAPAR. **Guandu anão IAPAR 43 – Aratã**. Londrina, 1995. Não paginado. (Boletim Técnico).

JONES, D. L.; KOCHIAN, L. V. Aluminum inhibition of the 1,4,5-triphosphate signal transduction pathway in wheat roots: a role in aluminum toxicity? **Plant Cell**, Rockville, v. 7, n. 11, p. 1913-1922, 1995.

JONES, H. G.; JONES, M. B. Introduction: some terminology and common mechanisms. In: JONES, H. G.; FLOWERS, T. J.; JONES, M. B. (Org.). **Plants under stress**. Cambridge: Cambridge University Press, 1992. cap. 1, p. 1-10.

KARAMANOS, A. J. The involvement of proline and some metabolites in water stress and their importance as drought resistance indicators. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, Sofia, v. 21, n. 2-3, p. 98-110, 1995.

KAUSS, H. Some aspects of calcium-dependent regulation in plant metabolism. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 38, p. 47-72, 1987.

KAVI KISHOR, P. B.; SANGAM, S.; AMRUTHA, R. N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, Columbus, v. 88, n. 3, p. 424-438, 2005.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2004. 452 p.

KETCHUM, R. E. B.; WARREN, R. C.; KLIMA, L. J.; LOPEZ-GUTIERREZ, F.; NABORS, M. W. The mechanism and regulation of proline accumulation in suspension cultures of the halophytic grass *Distichlis spicata* L. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 137, n. 3, p. 368-374, 1991.

KINRAIDE, T. B. Identity of the rhizotoxic aluminum species. **Plant and Soil**, The Hague, v. 134, n. 1, p. 167-178, 1991.

KINRAIDE, T. B.; PARKER, D. R. Non-phytotoxicity of the aluminum sulfate ion, AlSO_4^+ . **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 71, n. 2, p. 207-212, 1987.

KINRAIDE, T. B.; RYAN, P. R.; KOCHIAN, L. V., Interactive effects of Al^{3+} , H^+ and other cations on root elongation considered in terms of cell-surface electrical potential. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 99, n. 4, p. 1461-1468, 1992.

KOCHIAN, L. V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 46, p. 237-260, 1995.

KOCHIAN, L. V.; HOEKENGA, O. A.; PIÑEROS, M. A. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 55, p. 459-493, 2004.

KOHLMEYER, A. Visualization and analysis of quantum chemical and molecular dynamics data with vmd: part 2. Disponível em: <<http://www.theochem.ruhr-uni-bochum.de/~axel.kohlmeyer/cpmd-vmd/part2.html#chap4>>. Acesso em: 14 jan. 2008.

KOLLMEIER M.; FELLE, H. H.; HORST, W. J. 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 Physiology**, Minneapolis, v. 122, n. 3, p. 945-956, 2000.

KRIZEK, D. T.; FOY, C. D. Role of water stress in differential aluminum tolerance of two barley cultivars grown in an acid soil. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 11, p. 351-367, 1988.

KUHAD, M. S.; NANDWAL, A. S.; KUNDU, B. S. Physiological responses of pigeonpea (*Cajanus cajan* L.) genotypes to water stress. **Indian Journal of Plant Physiology**, New Delhi, v. 32, n. 3, p. 212-216, 1989.

KUHAD, M. S.; SHEORAN, I. S. Influence of simulated drought and salt stress at iso-osmotic levels on seedling growth of pigeonpea genotypes. **International Pigeonpea Newsletter**, Patancheru, n. 6, p. 48-50, 1987.

LANGE, A.; CARVALHO, J. L. N.; DAMIN, V.; CRUZ, J. C.; MARQUES, J. J. Alterações em atributos do solo decorrentes da aplicação de nitrogênio e palha em sistema semeadura direta na cultura do milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 460-467, 2006.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: RiMa Artes e Textos, 2000. 531 p.

LEME, R.; FILHO, N. L.; COUTO, L. B.; BARROS, E.; FARIA, S. M.; GRIBEL, R. Desenvolvimento de três gramíneas e sete leguminosas forrageiras para revegetação de área de empréstimo de argila na Amazônia Central. **CEMAC - Centro de Excelência em Matas Ciliares**, Lavras, 2005. Disponível em: <<http://www.cemac-ufla.com.br/trabalhospdf/trabalhos%20voluntarios/Protoc%20175.pdf>>. Acesso em: 24 out. 2005.

LIZANA, C.; WENTWORTH, M.; MARTINEZ, J. P.; VILLEGAS, D.; MENESES, R.; MURCHIE, E. H.; PASTENES, C.; LERCARI, B.; VERNIERI, P.; HORTON, P.; PINTO, M. Differential adaptation of two varieties of common bean to abiotic stress. I. Effects of drought on yield and photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 3, p. 685-697, 2006.

LODWIG, E.; POOLE, P. Metabolism of *Rhizobium* bacteroids. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Philadelphia, v. 22, n. 1, p. 37-78, 2003.

LOPEZ, F. B.; CHAUHAN, Y. S.; JOHANSEN, C. Effects of timing of drought stress on leaf area development and canopy light interception of short-duration pigeonpea. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Berlin, v. 178, n. 1, p. 1-7, 1997.

LOPEZ, F. B.; JOHANSEN, C.; CHAUHAN, Y. S. Limitations to seed yield in short-duration pigeonpea under water stress. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 36, n. 2, p. 95-102, 1994.

LOW, P. S. Molecular basis of the biological compatibility of nature's osmolytes. In: GILLES, R.; GILLES-BAILLIEN, M. (Org.). **Transport processes, ion and osmoregulation**. Berlin: Springer-Verlag, 1985. p. 469-477.

LUDLOW, M. M.; MUCHOW, R. C. A critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited environments. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 43, p.107-153, 1990.

LUTTS, S.; MAJERUS, V.; KINET, J. M. NaCl effects on proline metabolism in rice (*Oryza sativa*) seedlings. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 105, n. 3, p. 450-458, 1999.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. 251 p.

MANI, S.; Van de COTTE, B.; Van MONTAGU, M.; VERBRUGGEN, N. Altered levels of proline dehydrogenase cause hypersensitivity to proline and its analogs in Arabidopsis. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 128, n. 1, p. 73-83, 2002.

MANIVANNAN, P.; ABDUL JALEEL, C.; SANKAR, B.; KISHOREKUMAR, A.; SOMASUNDARAM, R.; LAKSHMANAN, G. M. A.; PANNEERSELVAM, R. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 59, n. 2, p. 141-149, 2007.

MANLY, B. F. J. **Multivariate statistical methods**. London: Chapman & Hall, 1994. 215 p.

MARIN, A. **Efeito da deficiência hídrica e da toxicidade do alumínio na germinação de sementes e no crescimento inicial do guandu cv. IAC Fava Larga**. 2000. 104 f. Monografia (Trabalho de Graduação em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2000.

MARIN, A. **Influência associada do estresse hídrico e do alumínio na germinação e crescimento inicial do guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.)**. 2003. 87 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2003.

MARIN, A.; SANTOS, D. M. M.; BANZATTO, D. A.; CODOGNOTTO, L. M. Influência da disponibilidade hídrica e da acidez do solo no teor de prolina livre de guandu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 2, p. 355-358, 2006.

MARSCHNER, H. Mechanisms of adaptation of plants to acid soils. In: WRIGHT, R. J.; BALIGAR, V. C.; MURRMANN, R. P. (Org.). **Plant-soil interactions at low pH**. Amsterdam: Kluwer Academic Publishers, 1991. p. 683-702.

MARTHA JÚNIOR, G. B.; CORSI, M. Pastagens no Brasil: situação atual e perspectivas. **Preços Agrícolas**, Piracicaba, n. 171, p. 3-6, 2001.

MATYSIK, J.; ALIA; BHALU, B.; MOHANTY, P. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. **Current Science**, Bangalore, v. 82, n. 5, p. 525-532, 2002.

MICHEL, B. E.; KAUFMANN, M. R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. **Plant Physiology**, Rockville, v. 51, n. 5, p. 914-916, 1973.

MILNER-WHITE, E. J.; BELL, L. H.; MACCALUM, P. H. Pyrrolidine ring puckering in *cis* and *trans*-proline residues in proteins and polypeptides: Different puckers are favoured

in certain situations **Journal of Molecular Biology**, London, v. 228, n. 3, p. 725-734, 1992.

MITTLER, R. Abiotic stress, the field environment and stress combination. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 11, n. 1, p. 15-19, 2006.

MOLINARI, H. B. C. **Expressão estresse-induzida do gene *P5CS* em plantas transgênicas de cana-de-açúcar submetidas ao déficit hídrico**. 2006. 109 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

MOREL, F.; PICCOLO, G. **Evaluación del “Guandú” (*Cajanus cajan* Millsp.) como especie recuperadora de la fertilidad del suelo**, Cerro Azul, 1999. Disponível em: <http://www.inta.gov.ar/cerroazul/investiga/suelos_anuales/guandu.htm>. Acesso em: 14 abr. 2006.

MORGAN, J. M. Osmoregulation and water stress in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 35, p. 299-319, 1984.

MUCHOW, R. C. **Analysis of the effect of water stress on the growth of grain legumes**. Brisbane: CSIRO – Division of Tropical Crops and Pastures, 1982. 74 p.

MUKANE, M. A.; CHAVAN, U. D.; DESAI, B. B. Effects of water stress on metabolic alterations in pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh] genotypes. **Legume Research**, Karnal, v. 16, n. 1-2, p. 45-50, 1993.

MUKANE, M. A.; DESAI, B. B.; NAIK, R. M.; CHAVAN, U. D. Biochemical markers for water stress in pigeonpea genotypes. **Journal of Maharashtra Agricultural Universities**, Pune, v. 21, n. 1, p. 140-141, 1997.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 239-250, 2002.

MURILLO-AMADOR, B.; LOPEZ-AGUILAR, R.; KAYA, C.; LARRINAGA-MAYORAL, J.; FLORES-HERNANDEZ, A. Comparative effects of NaCl and polyethylene glycol on

germination, emergence and seedling growth of cowpea. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Oxford, v. 188, n. 4, p. 235-247, 2002.

NANDWAL, A. S.; BHARTI, S.; KUHAD, M. S. Partitioning of ^{14}C assimilates, total ^{14}C activity and growth under water stress and during recovery in indeterminate *Cajanus cajan* L. **Journal of Arid Environment**, London, v. 33, n. 3, p. 367-377, 1996.

NANDWAL, A. S.; BHARTI, S.; KUHAD, M. S.; SINGH, J. Response of pigeonpea cultivars to water stress. **Biologia Plantarum**, Dordrecht, v. 35, n. 4, p. 641-644, 1993.

NARAYANAN, A.; SYAMALA, R. Response of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) genotypes to aluminium toxicity. **Indian Journal of Plant Physiology**, New Delhi, v. 32, n. 1, p. 17-24, 1989.

NAYYAR, H; MALIK, C. P. Carbohydrate metabolism in germinating seeds of pigeonpea primed with water and 'Mixtalol' in relation to drought stress. **Indian Journal of Agricultural Research**, Karnal, v. 27, n. 1, p. 45-50, 1993.

NENE, Y. L.; HALL, S. D.; SHEILA, U. K. **The pigeonpea**. Cambridge: CAB, 1990. 490 p.

NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; OYA, T. Tolerância a seca em plantas: mecanismos fisiológicos e moleculares. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, n. 23, p. 12-18, 2001.

NEUMANN, P. M. Coping mechanisms for crop plants in drought-prone environments. **Annals of Botany**, London, Fev. 2008. Disponível em: <http://aob.oxfordjournals.org/cgi/reprint/mcn018v1>. Acesso em: 15 fev. 2008.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V; BURITY, H. A.; BEZERRA NETO, E. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campinas, v. 13, n. 1, p. 755-87, 2001.

NOGUEIRA, S. S. S.; NAGAI, V. Effect of simulated water stress during different stages of the early soybean cultivars Paraná. **Bragantia**, Campinas, v. 47, n. 1, p. 9-14, 1988.

OMAMI, N. E. **Response of amaranth to salinity stress**. 2005. 235 f. Tese (Ph.D. in Horticulture) - Faculty of Natural and Agricultural Sciences, University of Pretoria, Pretoria, 2005.

PAHLICH, E.; KERRES, R.; JAGER, H-J. Influence of water stress on the vacuole/extravacuole distribution of proline in protoplasts of *Nicotiana rustica*. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 72, n. 2, p. 590-591, 1993.

PHANG, J. M. The regulatory functions of proline and pyrroline-5-carboxilic acid. **Current Topics in Cellular Regulation**, New York, v. 25, p. 91-132, 1985.

PINTRO, J.; BARLOY, J.; FALLAVIER, P. Aluminium toxicity in corn plants cultivated in a low ionic strength nutrient solution. II. Distribution of Al in the principal root tip zone. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campinas, v. 7, n. 2, p.129-134, 1995.

POOLPIPATANA, S.; HUE, N. V. Differential acidity tolerance of tropical legumes grown for green manure in acid sulfate soils. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 163, n. 1, p. 31-139, 1994.

PROVAZI, M.; CAMARGO, L. H. G.; SANTOS, P. M.; GODOY, R. Descrição botânica de linhagens puras selecionadas de guandu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 2, p. 328-334, 2007.

PUSTE, A. M.; JANA, P. K. Effect of phosphorus and zinc on growth patterns of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) grown during winter season. **Indian Journal of Plant Physiology**, New Delhi, v. 31, n. 3, p. 243-247, 1988.

RAGHUWANSHI, K. S.; PAWAR, R. B.; PAWAR, K. B.; PATIL, J. D. Effect of different moisture regimes on nodulation, growth and N-uptake of pigeonpea. **Journal Maharashtra Agricultural Universities**, Pune, v. 23, n. 1, p. 86-87, 1998.

RAO, I. M.; ZEIGLER, R. S.; VERA, R; SARKARUNG, S. Selection and breeding for acid-soil tolerance in crop. **BioScience**, Washington, v. 43, n. 7, p. 454-465, 1993.

RAO, S. C.; COLEMAN, S. W.; MAYEUX, H. S. Forage production and nutritive value of selected pigeonpea ecotypes in the southern Great Plains. **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 4, p. 1259-1263, 2002.

RAYAPATI, P. J.; STEWART, C. R.; HACK, E. Pyrroline-5-Carboxylate Reductase is in pea (*Pisum sativum* L.) leaf chloroplasts. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 91, n. 2, p. 581-586, 1989.

RENGEL, Z. Role of calcium in aluminium toxicity. **The New Phytologist**, Cambridge, v. 121, p. 499-513, 1992.

RIBA, X. F. **Poliaminas y tolerancia al aluminio en variedades tolerantes y sensibles de Zea mays**. 2001. 148 f. Tese (Doctoral em Ciències) - Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, 2001.

RODRIGUES, C. A. G. **Germinação e crescimento da parte aérea e sistema radicular de duas leguminosas forrageiras tropicais sob diferentes níveis de umidade**. 1993. 114 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 1993.

RODRIGUES, T. J. D. **Crescimento de plantas e respiração de raízes de Stylosanthes na presença de alumínio na solução nutritiva**. 1979. 44 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1979.

ROUT, G. R.; SAMANTARAY, S.; DAS, P. Aluminum toxicity in plants: a review. **Agronomie**, Paris, v. 21, n. 1, p. 03-21, 2001.

SAKAMOTO, A.; MURATA, N. Genetic engineering of glycinebetaine synthesis in plants: current status and implications for enhancement of stress tolerance. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 342, p. 81-88, 2000.

SANDERSON, M. A.; STAIR, D. W.; HUSSEY, M. A. Physiological and morphological responses of perennial forages to stress. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 59, p. 172-208, 1997.

SANTANA, D. G.; RANAL, M. A. Análise estatística na germinação. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campinas, v. 12, n. 4, p. 205-237, 2000.

SANTOS, C. H.; GRASSI FILHO, H.; RODRIGUES, J. D.; PINHO, S. Z. Níveis de alumínio e o desenvolvimento de porta-enxertos cítricos em cultivo hidropônico: I. Parâmetros biométricos. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, p. 921-932, 1999.

SANTOS, D. M. M.; RODRIGUES, T. J. D.; LEITE, I. C.; CARREGARI, S. M. R. Crescimento inicial da parte aérea e do sistema radicular de três cultivares de guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.). In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 12., 1998, Salvador. **Resumos...** Salvador: Sociedade Brasileira de Botânica, 1998. p. 202-203.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 2, n. 3, p. 287-294, 1998.

ŠČANČAR, J.; MILAČIČ, R. Aluminium speciation in environmental samples: a review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 386, n. 4, p. 999-1012, 2006.

SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 162, n. 8, p. 854-862, 2005.

SHARMA, S. S.; DIETZ, K. J. The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 4, p. 711-726, 2006.

SHELDRAKE, A. R.; NARAYANAN, A. Growth, development and nutrient uptake in pigeonpeas (*Cajanus cajan*). **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 92, p. 513-526, 1979.

SILVA, C. L. S. P. **Avaliação fisiológica da tolerância ao alumínio e utilização de marcadores moleculares em *Stylosanthes guianensis* (Aubl) Sw.** 1998. 106 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 1998.

SIMPLÍCIO, J. B. **Tolerância comparada de cultivares de milho ao alumínio, em cultivos hidropônicos de curta e média duração.** 1999. 48 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 1999.

SIVAGURU, M.; FUJIWARA, T.; ŠAMAJ, J.; BALUŠKA-YANG, Z.; OSAWA, H.; MAEDA, T.; MORI, T.; VOLKMANN, D.; MATSUMOTO, H. Aluminum-induced 1–3-β-d-glucan inhibits cell-to-cell trafficking of molecules through plasmodesmata: A new mechanism of Al toxicity in plants. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 124, n. 3, p. 991-1018, 2000.

SIVAPRASAD, B.; SARMA, K. S. S. Effect of temperature on seedling growth under impeding conditions. **Plant and Soil**, The Hague, v. 101, n. 1, p. 145-148, 1987.

SNEATH, P. H. A.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy.** San Francisco: W. H. Freeman, 1973. 573 p.

SRINIVAS, V.; BALASUBRAMANIAN, D. Proline is a protein-compatible hydrotrope. **Langmuir**, Washington, v. 11, n. 7, p. 2830-2833. 1995.

SZOKÉ, A.; MIAO, G. H.; HONG, Z.; VERMA, D. P. S. Subcellular location of delta1-pyrroline-5-carboxylate reductase in root/nodule and leaf of soybean. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 99, n. 4, p. 1642-1649, 1992.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** 3. ed. Trad. Eliane Romanato Santarém et al. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TICE, K. R.; PARKER, D. R.; DeMASON, D. A. Operationally defined apoplastic and symplastic aluminum fractions in roots tips of aluminum-intoxicated wheat. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 100, n. 1, p. 309-318, 1992.

TIMASHEFF, S. N. The control of protein stability and association by weak interactions with water: how do solvents affect these processes? **Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure**, Palo Alto, v. 22, p. 67-97. 1993.

VERMA, J.; SRIVASTAVA, A. K. Physiological basis of salt stress resistance in pigeon pea (*Cajanus cajan* L.). II. Pre-sowing seed soaking treatment in regulating early seedling metabolism during seed germination. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 25, n. 2, p. 89-94, 1998.

VERSLUES, P. E.; BRAY, E. A. *LWR1* and *LWR2* are required for osmoregulation and osmotic adjustment in arabidopsis. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 136, n. 1, p. 2831-2842, 2004.

VIANA, Y. A.; GARROTE FILHO, M. S.; PENHA-SILVA, N. Estabilização de proteínas por osmólitos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 21, n. 2, p. 83-88, 2005.

VIEIRA JÚNIOR, P. A.; DOURADO NETO, D.; OLIVEIRA, R. F.; PERES, L. E. P.; MARTIN, T. N.; MANFRON, P. A.; BONNECARRÈRE, R. A. G. Relações entre o potencial e a temperatura da folha de plantas de milho e sorgo submetidas a estresse hídrico. **Acta Scientiarum, Agronomy**, Maringá, v. 29, n. 4, p. 555-561, 2007.

VIEIRA, R. F.; SALGADO, L. T. A cultura do guandu. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 16, n. 174, p. 52-60, 1992.

VILELA, E. R. **Produção, caracterização e extrusão de farinha de guandu**. 1983. 149 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 1983.

VILLELA, F. A.; DONI FILHO, L.; SEQUEIRA, E. L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietilenoglicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 1957-1968, 1991.

WANG, W.; VINOCUR, B.; ALTMAN, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. **Planta**, Berlin, v. 218, n. 1, p. 1-14, 2003.

WERNER, J. C. O potencial do guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) como planta forrageira. **Zootecnia**, Nova Odessa, v. 17, n. 2, p. 73-100, 1979.

WILSON, J. R.; MUCHOW, R. C. Effect of water stress and dry matter digestibility and concentration of nitrogen and phosphorus in seven tropical grain legumes. **Journal of the Australian Institute of Agricultural Science**, North Ryde, v. 49, p. 03-169, 1983.

WRIGHT, R. J. Soil aluminum toxicity and plant growth. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 20, p. 1479-1497, 1989.

WUTKE, E. B. **Caracterização fenológica e avaliação agrônômica de genótipos de guandu** (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.). 1987. 164 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1987.

WYN JONES, R. G.; STOREY, R.; LEIGH, R. A.; AHMAD, N.; POLLARD, A. A hypothesis on cytoplasmic osmoregulation. In: MARRE, E.; CIFFERI, O. (Org.). **Regulation of cell membrane activities in plants**. Amsterdam: Elsevier, 1977. p. 121-136.

YANCEY, P. H. Organic osmolytes as compatible, metabolic counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stress. **The Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 208, n. 15, p. 2819-2830, 2005.

YANCEY, P. H.; CLARK, M. E.; HAND, S. C.; BOWLUS, R. D.; SOMERO, G. N. Living with water stress: evolution of osmolyte systems. **Science**, New York, v. 217, n. 4566, p.1214-1222, 1982.

YANG, Y. H.; CHEN, S. M.; CHEN, Z.; ZHANG, H. Y.; SHEN, H. G.; HUA, Z. C.; LI, N. Silicon effects on aluminum toxicity to mungbean seedling growth. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 22, n. 04-05, p. 693-700, 1999.

YANG, Y. H.; ZHANG, H. Y. Effect of citric acid on aluminum toxicity in the growth of mungbean seedlings. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 21, n. 5, p. 1037-1044, 1998.

ZAIFNEJAD, M.; CLARK, R. B.; SULLIVAN, C. Y. Aluminum and water stress effects on growth and proline of sorghum. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 150, n. 3, p. 338-344, 1997.

ZHANG, J.; HE, Z.; TIAN, H.; ZHU, G.; PENG, X. Identification of aluminium-responsive genes cultivars with different aluminium sensitivities. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 58, n. 8, p. 2269-2278, 2007.

ZHANG, W. H.; RENGEL, Z. Aluminium induces an increase in cytoplasmic calcium in intact wheat root apical cells. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v. 26, n. 5, p. 401-409, 1999.

ZHAO, X. J.; SUCOFF, E.; STADELMANN, E. J. Al^{3+} and Ca^{2+} alteration of membrane permeability of *Quercus rubra* root cortex cells. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 83, n. 1, p.159-162, 1987.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Metodologia preliminar

Metodologia preliminar

A parte experimental do projeto teve ocorrido no período de 19.01.2005 a 20.12.2006. Foram instalados os ensaios com os tratamentos de estresse hídrico proposto para serem adequados à solução nutritiva de Clark (CLARK, 1977; *vide* Tabela 1) nos potenciais osmóticos de 0,0; -0,6; -0,9; -1,2 e -1,5 MPa os quais foram induzidos com PEG 6000, de acordo com a metodologia descrita por ZEIFNEJAD et al. (1997).

Verificou-se que os tratamentos anteriormente citados provocaram a morte das plantas jovens de ambas cultivares, com 10 dias de idade, em poucas horas. Assim, foram realizados outros ensaios, visando um ajuste da metodologia. Primeiramente, ambas cultivares foram semeadas em areia e após 10 dias, as plantas jovens foram transplantadas.

ENSAIO 01 - Neste primeiro ensaio as plantas jovens de ambas cultivares, com 10 dias de idade, foram transplantadas para a solução nutritiva de Clark nos potenciais osmóticos de 0,0; -0,1; -0,2; -0,3 e -0,4 MPa e observou-se que estas concentrações provocaram a morte das plantas em 24 horas.

ENSAIO 02 - Neste segundo ensaio, as plantas jovens de ambas cultivares, com 10 dias de idade, foram transplantadas para solução nutritiva de Clark 1/2 força por cinco dias e em solução nutritiva de Clark força total por mais cinco dias, para aclimação. As plantas com a idade de 20 dias a partir da semeadura, foram colocadas em solução de Clark força total com os seguintes potenciais osmóticos: 0,00; -0,02; -0,04; -0,06 e -0,08 MPa. Verificou-se que estas concentrações provocaram a morte das plantas jovens após três dias.

ENSAIO 03 - Neste último ensaio, as plantas jovens de ambas cultivares, com 10 dias de idade, foram transplantadas para a solução nutritiva de Clark 1/2 força por cinco dias e em solução de Clark força total por mais cinco dias para aclimação. Decorrido este período, as mesmas foram colocadas em solução de Clark força total com os

seguintes potenciais osmóticos: 0,000; -0,004; -0,006; -0,008 e -0,010 MPa. Estas plantas jovens estavam com a idade de 20 dias a partir da semeadura. Com esta metodologia as plantas permaneceram sadias durante 15 dias. Verificou-se, então, que esta metodologia foi a mais adequada para a condução experimental do efeito do estresse hídrico nas cultivares de guandu.

Após a definição dos potenciais osmóticos procedeu-se a adição de sulfato de alumínio $[\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}]$ para indução da toxidez nos níveis de 0,00; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 mmol $\text{Al}^{3+} \text{ dm}^{-3}$ (NARAYANAN & SYAMALA, 1989). Verificou-se que a adição do alumínio promoveu a toxidez desejada sem promover a morte das plantas, permitindo a condução adequada do experimento proposto.

A partir deste ajuste da metodologia, foram montados os experimentos definitivos. Todavia, o recipiente utilizado (frasco SNAP CAP) possui diâmetro de 5,0 cm, e o tubo de plástico, para saída de ar (aeração), inserido neste frasco ocasionava, mesmo com bolhas calibradas em tamanho pequeno, danos estruturais no sistema radicular das plantas jovens de guandu. Ainda, foi verificado que a proximidade do tubo de aeração no sistema pode ser um fator adicional para causar este efeito deletério nas raízes. Diante disto, foi realizada a prévia aeração da água a ser utilizada no preparo das soluções por aproximadamente 12 horas. Este procedimento mostrou-se adequado, porque as plantas jovens, em momento algum apresentaram sintomas de hipoxia.

APÊNDICE B – Tabelas complementares

Tabela I. Teste de Tukey da altura (cm) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob estresse hídrico (H) e toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Médias e teste de Tukey ¹ da altura de plantas jovens (cm)			
Potencial Osmótico (MPa)		Concentração de Alumínio (mmol dm ⁻³)	
0,000	13,2825A	0,00	14,1075A
-0,004	13,6750A	0,25	13,3375AB
-0,006	12,6950A	0,50	13,1675AB
-0,008	13,6250A	0,75	13,0200AB
-0,010	12,4825A	1,00	12,1275B

¹Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05); DMS = 1,2533.

Tabela II. Teste de Tukey da massa fresca de folhas (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob estresse hídrico (H) e toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Médias e teste de Tukey ¹ da massa fresca de folhas (mg)			
Potencial Osmótico (MPa)		Concentração de Alumínio (mmol dm ⁻³)	
0,000	461,3925A	0,00	386,1525A
-0,004	334,0925B	0,25	305,5850B
-0,006	260,9850CD	0,50	307,9825B
-0,008	277,1725BC	0,75	308,9550B
-0,010	212,2375D	1,00	237,2050C

¹Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05); DMS = 60,1017.

Tabela III. Teste de Tukey da massa fresca de folhas (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), para a interação entre cultivares e toxidez do alumínio (C x A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Médias e teste de Tukey ¹ da massa fresca de folhas (mg)		
Concentração de Alumínio (mmol dm ⁻³)	IAPAR 43-Aratã	IAC Fava Larga
0,00	273,7050 aB	498,6000 aA
0,25	229,0800 aB	382,0900 bA
0,50	234,8550 aB	381,1100 bA
0,75	221,2600 aB	396,6500 bA
1,00	211,9850 aA	262,4250 cA

¹Médias seguidas de mesma letra minúsculas na vertical (dentro da cultivar: DMS=84,9966) e de maiúsculas na horizontal (entre cultivares: DMS=60,7678) não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Tabela IV. Teste de Tukey da massa seca de caules (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob estresse hídrico (H) e toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Médias e teste de Tukey ¹ da massa seca de caules (mg)			
Potencial Osmótico (MPa)		Concentração de Alumínio (mmol dm ⁻³)	
0,000	30,9450 AB	0,00	31,9200 A
-0,004	33,2950 A	0,25	29,6150 AB
-0,006	29,1125 BC	0,50	28,9450 AB
-0,008	28,7825 BC	0,75	29,4425 AB
-0,010	25,0775 C	1,00	26,2900 B

¹Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05); DMS = 4,1174.

Tabela V. Teste de Tukey da massa seca de caules (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), para a interação entre cultivares e estresse hídrico (C x H), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Médias e teste de Tukey ¹ da massa seca de caules (mg)		
Potencial Osmótico (MPa)	IAPAR 43-Aratã	IAC Fava Larga
0,000	23,2700 aB	38,6200 abA
-0,004	25,9450 aB	40,6450 aA
-0,006	23,6700 aB	34,5550 bA
-0,008	23,5150 aB	34,0500 bA
-0,010	21,9700 aB	28,1850 cA

¹Médias seguidas de mesma letra minúsculas na vertical (dentro da cultivar: DMS=5,8229) e de maiúsculas na horizontal (entre cultivares: DMS=4,1630) não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Tabela VI. Teste de Tukey da massa seca de caules (mg) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), para a interação entre cultivares e toxidez do alumínio (C x A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Médias e teste de Tukey ¹ da massa seca de caules (mg)		
Concentração de Alumínio (mmol dm ⁻³)	IAPAR 43-Aratã	IAC Fava Larga
0,00	23,6100 aB	40,2300 aA
0,25	24,5750 aB	34,6550 abA
0,50	25,7850 aB	34,1050 bA
0,75	22,5300 aB	36,3550 abA
1,00	21,8700 aB	30,7100 bA

¹Médias seguidas de mesma letra minúsculas na vertical (dentro da cultivar: DMS=5,8229) e de maiúsculas na horizontal (entre cultivares: DMS=4,1630) não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Tabela VII. Teste de Tukey da área foliar (dm^2) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob estresse hídrico (H) e toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Médias e teste de Tukey ¹ da área foliar (dm^2)			
Potencial Osmótico (MPa)		Concentração de Alumínio (mmol dm^{-3})	
0,000	0,5032 A	0,00	0,4057 A
-0,004	0,3512 B	0,25	0,3350 B
-0,006	0,2827 CD	0,50	0,3394 AB
-0,008	0,3076 BC	0,75	0,3286 BC
-0,010	0,2286 D	1,00	0,2646 C

¹Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$); DMS = 0,0678.

Tabela VIII. Teste de Tukey dos teores de prolina livre nas folhas ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de Massa Fresca) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), para a interação entre cultivares e estresse hídrico (C x H), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Médias e teste de Tukey ¹ dos teores de prolina livre nas folhas ² ($\mu\text{mol g}^{-1}$ M.F. ⁽³⁾)		
Potencial Osmótico (MPa)	IAPAR 43-Aratã	IAC Fava Larga
0,000	0,9080 dA	0,7941 cA
-0,004	2,8485 cB	3,5127 bA
-0,006	3,2177 bcB	3,7546 bA
-0,008	3,5582 bA	3,6372 bA
-0,010	4,2507 aA	4,3780 aA

¹Médias seguidas de mesma letra minúsculas na vertical (dentro da cultivar: DMS=0,5806) e de maiúsculas na horizontal (entre cultivares: DMS=0,4151) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$); ²Dados de prolina livre nas folhas transformados em $\ln(x+1)$. ³ mmol g^{-1} M.F. = mmol g^{-1} de Massa Fresca

Tabela IX. Teste de Tukey dos teores de prolina livre nas folhas ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de Massa Fresca) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), para a interação entre cultivares e toxidez do alumínio (C x A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Médias e teste de Tukey ¹ dos teores de prolina livre nas folhas ² ($\mu\text{mol g}^{-1}$ M.F. ⁽³⁾)		
Concentração de Alumínio (mmol dm^{-3})	IAPAR 43-Aratã	IAC Fava Larga
0,00	2,6732 aA	2,5727 cA
0,25	2,9223 aA	3,1244 bcA
0,50	3,0739 aA	3,0062 bcA
0,75	3,1461 aA	3,2208 bA
1,00	2,9677 aB	4,1524 aA

¹Médias seguidas de mesma letra minúsculas na vertical (dentro da cultivar: DMS=0,5806) e de maiúsculas na horizontal (entre cultivares: DMS=0,4151) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$); ²Dados de prolina livre nas folhas transformados em $\ln(x+1)$. ³ mmol g^{-1} M.F. = mmol g^{-1} de Massa Fresca

Tabela X. Teste de Tukey da densidade de raízes (mm cm^{-3} de S.N.) de plantas jovens de guandu, cv. IAPAR 43-Aratã (C1) e cv. IAC Fava Larga (C2), sob estresse hídrico (H) e toxidez do alumínio (A), durante 10 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Médias e teste de Tukey ¹ da Densidade de Raízes (mm cm^{-3} S.N. ⁽²⁾)			
Potencial Osmótico (MPa)		Concentração de Alumínio (mmol dm^{-3})	
0,000	0,9585 AB	0,00	1,0215 A
-0,004	0,9160 AB	0,25	0,9323 AB
-0,006	0,9720 A	0,50	0,8883 AB
-0,008	0,9740 AB	0,75	0,9283 AB
-0,010	0,8170 B	1,00	0,8402 B

¹Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$); DMS = 0,1468. ² mm cm^{-3} S.N. = mm cm^{-3} de Solução Nutritiva de Clark