

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**INFLUÊNCIA ASSOCIADA DO ESTRESSE HÍDRICO E DO
ALUMÍNIO NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL
DO GUANDU (*Cajanus cajan* (L.) MILLSP.)**

Adão Marin
Engenheiro Agrônomo

Jaboticabal – São Paulo – Brasil
2003

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**INFLUÊNCIA ASSOCIADA DO ESTRESSE HÍDRICO E DO
ALUMÍNIO NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL
DO GUANDU (*Cajanus cajan* (L.) MILLSP.)**

Adão Marin

Orientadora: Profa. Dra. Durvalina Maria Mathias dos Santos

Dissertação apresentada à
Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias - UNESP, como parte
das exigências para a obtenção do
Título de Mestre em Agronomia -
Área de Concentração Produção
Vegetal.

Jaboticabal – SP
Julho – 2003

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 (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus 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 toxicidade do alumínio na germinação de sementes e no crescimento inicial do guandu cv. IAC Fava Larga” sob orientação da Prof. 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. Também esteve presente em importantes eventos científicos, destacando a apresentação de trabalhos no XII e XIII Congressos da Sociedade Botânica de São Paulo e no 8º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP.

A SABEDORIA E O ENTENDIMENTO

Mas onde se achará a sabedoria? E onde está o lugar do entendimento?

O homem não lhe conhece o caminho; nem se acha ela na terra dos viventes.

O abismo diz: Não está em mim; e o mar diz: ela não está comigo. Não pode ser comprada com ouro fino, nem a peso de prata se trocará.

Nem se pode avaliar em ouro fino de Ofir, nem em pedras preciosas de berilo, ou safira.

Com ela não se pode comparar o ouro ou o vidro; nem se trocará por jóias de ouro fino.

Não se fará menção de coral nem de cristal; porque a aquisição da sabedoria é melhor que a das pérolas.

Não se lhe igualará o topázio da Etiópia, nem se pode comprar por ouro puro.

Donde, pois, vem a sabedoria? Onde está o lugar do entendimento?

Está encoberta aos olhos de todo vivente, e oculta às aves do céu.

O Abadom e a morte dizem: Ouvimos com os nossos ouvidos um rumor dela.

Deus entende o seu caminho, e ele sabe o seu lugar. Porque Ele perscruta até as extremidades da terra, sim, Ele vê tudo o que há debaixo do céu. Quando regulou o peso do vento, e fixou a medida das águas; quando prescreveu leis para a chuva e caminho para o relâmpago dos trovões; então viu a sabedoria e a manifestou; estabeleceu-a, e também a esquadrinhou.

E disse ao homem: Eis que o temor do Senhor é a sabedoria, e o apartar-se do mal é o entendimento.

Jó. Cap. 28, vers.: 12 a 28

Os jovens se cansarão e se
fatigarão, e os mancebos cairão,
mas os que esperam no Senhor
renovarão as suas forças;
subirão com asas como águias;
correrão, e não se cansarão;
andarão, e não se fatigarão.

Isaias. Cap. 40, vers.: 30 - 31

A Deus, de quem veio a força e o ânimo para completar
mais esta etapa.

Aos meus pais, Dionisio 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 deste mestrado, tanto como orientadora quanto amiga, sempre incentivando; uma exemplar profissional, cujas atitudes serviram de alicerce para o meu aprendizado.

Aos professores David Ariovaldo Banzatto e Antonio Sérgio Ferraudo, pelas importantes orientações nas análises estatísticas.

Ao professor Willian Natale, pela orientação e interpretação das análises químicas de solo.

A professora Fabiola Vitti Môro, pelo grande auxílio na realização das avaliações morfo-anatômicas, e também à técnica de laboratório Roseli Conceição Silva, pela disposição e ajuda na confecção das lâminas histológicas.

Aos professores José Antonio Proença Vieira de Moraes e Rubens Sader, pela grande cooperação e importantes considerações apresentadas.

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, Ana Christina, Andressa, Claudia, Elisa, Eric, Fabiana, Felipe, Gisele, Gustavo, Kazuo, Leonardo, Lucas, Marco, Nilce, Rachel, Roberta, William, pela agradável convivência durante estes anos, e também à Pastora Cleuza e Aline, 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.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo auxílio financeiro concedido para realização de toda parte experimental (Projeto 01/03597-0).

Agradeço, em especial, a minha amiga Kennya Ap. Lucena Puch, que mesmo à distância participou, plenamente, sempre transmitindo ânimo e coragem, suas palavras e orações foram uma fonte de força que ajudaram de forma inestimável superar as adversidades, a você todo meu carinho.

SUMÁRIO

Página

INFLUÊNCIA ASSOCIADA DO ESTRESSE HÍDRICO E DO ALUMÍNIO NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DO GUANDU (<i>Cajanus cajan</i> (L.) MILLSP.)	1
RESUMO.....	1
ABSTRACT	2
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	3
1. Água e as plantas.....	6
2. Alumínio e as plantas	7
3. Guandu - <i>Cajanus cajan</i> (L.) Millsp.	9
3.1. Cultivares	10
IAC Fava Larga	10
IAPAR 43-Aratã	11
3.2. Crescimento e desenvolvimento	12
3.3. Estresse hídrico.....	13
3.4. Alumínio	14
3.5. Estresse hídrico e alumínio	14
3.6. Teores de prolina livre	15
4. Objetivos	16
REFERÊNCIAS.....	16
CAPÍTULO 2 - GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE GUANDU (<i>Cajanus cajan</i> (L.) MILLSP.) SOB EFEITO DA DISPONIBILIDADE HÍDRICA E CONCENTRAÇÕES DE ALUMÍNIO	25
Introdução	26
Material e Métodos.....	28
Resultados e Discussão	30
Conclusões.....	46

REFERÊNCIAS.....	47
CAPITULO 3 - EFEITOS DA DISPONIBILIDADE HÍDRICA E DA ACIDEZ DO SOLO NO CRESCIMENTO INICIAL E NOS TEORES DE PROLINA DE GUANDU (<i>Cajanus cajan</i> (L.) MILLSP.).....	50
Introdução	51
Material e Métodos.....	53
1. Tratamentos de acidez do solo	54
2. Tratamentos de disponibilidade hídrica	56
3. Avaliações Fisiológicas	58
Crescimento inicial	58
<i>Parte aérea</i>	58
Teores de prolina livre	58
<i>Sistema radical</i>	59
Avaliações morfo-anatômicas	60
4. Tratamento estatístico	60
Resultados e Discussão	61
Avaliações Fisiológicas	61
Crescimento inicial e teores de prolina da parte aérea	61
Crescimento inicial do sistema radical.....	67
<i>Avaliações morfo anatômicas</i>	76
Conclusões.....	80
REFERÊNCIAS.....	81

**INFLUÊNCIA ASSOCIADA DO ESTRESSE HÍDRICO E DO ALUMÍNIO NA
GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DO GUANDU (*Cajanus cajan* (L.)
MILLSP.)**

RESUMO - O objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito da disponibilidade hídrica e do alumínio na germinação e da disponibilidade hídrica e acidez do solo no crescimento inicial das cultivares de guandu, IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga. A disponibilidade hídrica foi limitante para a germinação e crescimento inicial. Para a germinação, os efeitos da interação da disponibilidade hídrica e do alumínio foram acentuados em estresses hídricos moderados. Os efeitos do alumínio foram evidenciados quando havia disponibilidade hídrica. A germinação da cultivar IAPAR 43-Aratã foi mais tolerante aos efeitos simultâneos da disponibilidade hídrica e do alumínio, enquanto que a cultivar IAC Fava Larga foi mais tolerante no estabelecimento da plântula. No crescimento inicial da cultivar IAPAR-43 Aratã apresentou um menor desenvolvimento da parte aérea e do sistema radical tanto em condições de restrição hídrica quanto de acidez, comparada com a IAC Fava Larga. Em condições de restrição hídrica severa a cultivar IAC Fava Larga pode ser considerada mais tolerante devido ao maior acúmulo de prolina. No solo, a associação dos fatores alumínio e restrição hídrica severa apresentou um efeito sinérgico sobre os teores de prolina livre. As avaliações morfo-anatômicas das raízes não apresentaram respostas que constatassem a tolerância diferencial para o alumínio entre as cultivares.

Palavras chave: Acidez do solo, Forrageira, Leguminosa, Potencial Osmótico, Prolina

THE ASSOCIATION EFFECTS OF THE WATER STRESS AND ALUMINUM ON SEED GERMINATION AND ON EARLY GROWTH OF PIGEONPEA (*Cajanus cajan* (L.) MILLSP.)

ABSTRACT - The aim of this work was to verify the water stress and aluminum toxicity effects on the germination and initial growth of two pigeonpea cultivars, namely IAPAR 43-Aratã and IAC Fava Larga. Water stress was more limiting on germination and initial growth. The germination was significantly reduced under simultaneous effects of water stress and aluminum toxicity when in conditions of moderate water stress. Aluminum toxicity effects were observed only in conditions of a few water stress. The germination of IAPAR 43-Aratã and the initial growth of IAC Fava Larga, were more tolerant in simultaneous conditions of water stress and aluminum. IAPAR 43-Aratã showed lower root and shoot development than IAC Fava Larga during early growth under both stresses. Due to the high amounts of free proline present in IAC Fava Larga, cultivated under conditions of severe water stress, this cultivar can be considered drought-tolerant. Synergistic effects were evident in the amounts of free proline levels, when aluminum and several water stresses were combined. The lack of differential tolerance to aluminum on morpho-anatomical root systems did not show any clear responses between cultivars.

Keywords: Acid soil, Forage, Legume, Osmotic Potential, Proline

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

A espécie *Cajanus cajan* (L.) Millsp., forrageira conhecida como guandu, ocupa mundialmente o 6º lugar em importância alimentar dentre as leguminosas produtoras de grãos, sendo usada extensivamente na Ásia tanto para alimentação humana como para alimentação animal (PONS, 2002).

No Brasil, a cultura do guandu foi introduzida, principalmente, devido à habilidade de ser resistente à seca e de crescer em solos pobres, além de ser uma planta muito adaptada às condições climáticas do país, apresentando bons resultados como fornecedora de grãos para alimentação humana e massa verde nos pastos em períodos de chuvas escassas (ALCÂNTARA e BUFARAH, 1988; ALVES e MEDEIROS, 1997).

O estresse hídrico influencia diversos aspectos do desenvolvimento da planta desde a germinação até a senescência, e a sensibilidade diferencial de uma planta nos diferentes estádios de desenvolvimento pode reduzir, acentuadamente, o crescimento vegetal (SANDERSON et al., 1997).

No processo de germinação das sementes, a primeira etapa na seqüência de eventos indutores do crescimento do embrião é a absorção de água, ou seja a embebição, que inicia uma série de processos fisiológicos e bioquímicos no interior da semente, os quais, na ausência de outro fator limitante, resultam na emergência da raiz primária e estabelecimento da plântula (POPINIGIS, 1977). Deste modo, as sementes expostas à condições de estresse hídrico têm o seu metabolismo alterado, podendo retardar o processo germinativo e de estabelecimento da plântula, ou até mesmo inibi-lo completamente (TAIZ e ZEIGER, 2002).

As plantas sob estresse hídrico, apresentam alterações nos processos fisiológicos que estão mais diretamente associados com a produtividade das pastagens, tais como movimento estomático, fotossíntese, respiração, translocação e partição de fotoassimilados (TURNER e BEGG, 1978), pois a estratégia de sobrevivência das plantas em habitats caracterizados como estressantes não é a maximização da produtividade, mas certamente uma composição equilibrada entre o rendimento e a

sobrevivência (LARCHER, 2000). Contudo, a intensidade dos efeitos prejudiciais na planta dependerá da duração e da severidade do estresse, do estágio de desenvolvimento e do genótipo utilizado (TAIZ e ZEIGER, 2002).

As distintas situações de estresse hídrico, no solo, podem ser simuladas em condições de laboratório, utilizando-se soluções aquosas em diferentes potenciais osmóticos (HARDEGREE e EMMERICH, 1994), com o polietilenoglicol, (PEG), que é um agente osmótico, quimicamente inerte, atóxico para as sementes e constituído por moléculas grandes que impedem sua passagem pelo tegumento (VILLELA et al., 1991).

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.

Com relação ao alumínio, a disponibilidade deste elemento constitui, inicialmente, uma consequência da acidez dos solos (SIMPLÍCIO, 1999), pois a condição de acidez elevada resulta na dissolução de minerais de argila e óxido de alumínio, conduzindo ao aparecimento da forma trocável, constituindo assim o alumínio o fator mais limitante da produtividade das plantas em solos ácidos (BONATO et al., 2000). O pH do solo determina a nutrição e distribuição do vegetal, uma vez que muitos processos bioquímicos ocorrem somente em uma estreita faixa de valores de pH, principalmente na faixa entre 6,0 e 7,0 (LARCHER, 2000).

Os efeitos da toxicidade do alumínio na cultura do guandu, são notados tanto na parte aérea como no sistema radical¹, todavia, tais efeitos são mais proeminentes nas raízes, resultando em um desenvolvimento pouco vigoroso, com engrossamento e coloração dos tecidos anormais (NARAYANAN e SYAMALA, 1989).

De um modo geral, os estudos dos efeitos simultâneos dos estresses hídrico e de alumínio são escassos na literatura (KRIZEK e FOY, 1988; WALLACE, 1990; ZAIJNEJAD et al., 1997), pois a maioria das pesquisas com plantas cultivadas

¹ **radical**: do lat. *radix*, adjetivo relativo à raiz (CUNHA, 1997).

ênfatizam os efeitos isolados dos estresses isto é somente o hídrico ou somente do alumínio (ZAIFNEJAD et al., 1997).

Para capacitar as plantas à tolerar o estresse hídrico, o ajustamento osmótico constitui-se um dos mecanismos fisiológicos mais importante (Begg e Turner, 1976, citados por BURLE e RODRIGUES, 1990). Salienta-se que, as mudanças no potencial osmótico causado pela concentração de solutos, advindas da perda de água são totalmente distintas daquelas causadas pelo acúmulo ativo de solutos. Neste caso a célula permanece túrgida devido ao ajuste osmótico que protege a célula na desidratação, contrariamente à célula plasmolisada que não tem o ajuste osmótico, e portanto, o volume celular é inversamente proporcional ao potencial osmótico (GUO e OOSTERHUIS, 1997). Os compostos envolvidos no ajustamento osmótico compreendem substâncias inorgânicas como potássio e cloreto e orgânicas como açúcares solúveis, ácidos orgânicos e, principalmente, aminoácidos livres, como a prolina (INGRAN e BARTELS, 1996).

O acúmulo de prolina está associado não somente às plantas que se desenvolvem sob condições de estresses hídrico mas também sob condições tóxicas de alumínio, pois deve envolver mecanismos fisiológicos similares para conter estes dois tipos de estresses (ZAIFNEJAD et al., 1997). As plantas sob efeito do alumínio apresentam acúmulo de prolina (GALVEZ et al., 1991). 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 (Klimashevskii, 1983, citado por ZAIFNEJAD et al., 1997).

Os efeitos simultâneos dos estresses hídrico e alumínio, causam um aumento nos teores de prolina tanto na parte aérea quanto no sistema radical de plantas de sorgo, mas, para uma melhor compreensão desses efeitos simultâneos sobre o acúmulo de prolina, mais estudos devem ser realizados com outras plantas cultivadas, pois são poucas as informações na literatura pertinente (ZAIFNEJAD et al., 1997).

1. Água e as plantas

A deficiência hídrica pode reduzir significativamente os rendimentos das lavouras e restringir as latitudes e os solos onde espécies comercialmente importantes podem ser cultivadas (NEPOMUCENO et al., 2001).

Os teores hídricos na semente dependem da composição química e da permeabilidade do tegumento da semente à água (potencial matricial), os quais determinam a umidade mínima necessária para que ocorra a germinação. Portanto, de um modo geral, potenciais osmóticos com valores de pressão (MPa) muito negativos no substrato, provocam atraso e/ou diminuição na porcentagem de germinação (BRADFORD, 1995).

No crescimento inicial ou 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 e ZEIGER, 2002). A seca pode entretanto, estimular as reações adaptativas que capacitam as plantas à sobreviverem em períodos prolongados de deficiência hídrica (LARCHER, 2000).

O sistema radical profundo e 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 e ZEIGER, 2002). Por outro lado, o estresse hídrico pode aumentar a razão raiz/parte aérea das plantas (GERASKIS et al., 1975), provavelmente porque a parte aérea da planta tende a crescer até que a absorção de água pelas raízes seja limitante, e inversamente o sistema radical tende a se desenvolver até que sua necessidade em fotoassimilados seja igual a quantidade que é produzida na parte aérea (TAIZ e ZEIGER, 2002).

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. O ajustamento osmótico, ou acúmulo de solutos pelas células, é um processo pelo qual o potencial hídrico pode diminuir sem que haja redução da turgidez das células das plantas. O ajustamento osmótico não é devido ao aumento na concentração de solutos que ocorre durante a desidratação e da diminuição de volume celular, pois neste mecanismo o aumento na concentração de solutos é independente das alterações no volume das células resultantes da perda de água (COSTA, 2003). Para que ocorra o ajustamento osmótico, existe a participação de muitas substâncias dentre elas os solutos compatíveis como a prolina, aminoácido que não interfere com o metabolismo e acumula-se no citoplasma de forma a manter o equilíbrio hídrico entre o vacúolo e o citoplasma (TAIZ e ZEIGER, 2002).

2. Alumínio e as plantas

A maioria das terras cultivadas, aproximadamente 78,4%, é composta de solos ácidos que impossibilitam a exploração economicamente viável das culturas, uma vez que os processos de formação do solo que originam a sua acidez, freqüentemente, ocasionam também o esgotamento de alguns elementos essenciais para as plantas (HAMEL et al., 1998). Assim os problemas da baixa fertilidade dos solos ácidos, são bem generalizados em muitas partes do mundo, sendo particularmente comuns nos trópicos úmidos, incluindo a América do Sul (van WAMBEKE, 1976 e FUENTE-MARTINÉZ e HERRERA-ESTRELLA, 1999). Somente no Brasil, os solos do cerrado, com baixa capacidade de troca de íons e alta toxicidade de alumínio representam 205 milhões de hectares (Pandey et al., 1994, citados por FUENTE-MARTINÉZ e HERRERA-ESTRELLA, 1999).

O alumínio é o principal íon encontrado em condições de acidez no solo, tanto na forma de Al^{3+} (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 1979; FUENTE-MARTINÉZ e HERRERA-ESTRELLA, 1999), quanto na forma de $\text{Al}(\text{OH})^{+2}$ a qual pode tornar-se solúvel dependendo do valor do pH (DELHAIZE e RYAN, 1995), isto é, pH menor que 5 permite que a forma Al^{3+} exista como hexahidrato octaedral,

($\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$), mas conforme o pH aumenta, ocorre sucessiva desprotonização do $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ para a forma $\text{Al}(\text{OH})^{+2}$ e $\text{Al}(\text{OH})_2^{+1}$ (SIMPLÍCIO, 1999).

Em solos muito ácidos em que são liberados íons alumínio, ferro e manganês em excesso, ocorre deficiência de íons cálcio, magnésio, potássio, fósforo e molibdênio, ou ainda estes íons encontram-se ligados dificultando a absorção pelas plantas (LARCHER, 2000).

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 toxicidade de alumínio (MALAVOLTA, 1980).

Nos solos ácidos, as plantas cultivadas mesmo em condições adequadas de nutrientes, podem não atingir taxa de crescimento e produtividade ótimas, quando teores elevados de alumínio estão presentes (FUENTE-MARTINÉZ e HERRERA-ESTRELLA, 1999; SIMPLÍCIO, 1999).

Os efeitos prejudiciais do alumínio sobre as plantas de diversas espécies, são observados tanto no sistema radical quanto na parte aérea das plantas (FAHL et al., 1980; 1982), destacando-se os efeitos deletérios nas leguminosas forrageiras como *Stylosanthes* spp (RODRIGUES, 1979; SILVA, 1998) e *Vigna* spp (YANG e ZHANG, 1998; YANG et al., 1999).

Por ser um elemento de pouca mobilidade dentro da planta (EPISTEIN, 1974), os efeitos do alumínio são mais evidentes no sistema radical onde provoca um detrimento na formação da estrutura das raízes, induzindo ao sintoma inicial mais drástico da toxicidade, a inibição do alongamento celular, mas também induz engrossamento e a diminuição da permeabilidade das células radicais (CAMBRAIA et al., 1990; SANDERSON et al., 1997), com conseqüente inibição da divisão celular e redução da síntese de DNA (FAHL et al., 1980; TICE et al., 1992; KOCHIAN, 1995). Também, fisiologicamente, a toxicidade do alumínio pode inibir as enzimas envolvidas na respiração e na translocação e absorção de nutrientes (BENNETT, 1996).

Os efeitos deletérios mais evidentes do alumínio ocorrem nos ápices das raízes (BENNET e 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 um 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 e TADANO, 1993). Também as raízes que são danificadas pelo alumínio conseguem crescer apenas em um volume limitado de solo (WRIGHT, 1989), visto que as plantas tolerantes ao alumínio conseguem desenvolver seu sistema radical em profundidade e explorar maior volume de solo em busca de água e nutrientes (FURLANI et al., 1985).

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

O gênero *Cajanus* apresenta duas espécies, *Cajanus cajan* (L.) Millsp., distribuída pantropicamente, e *Cajanus kerstingii* Hrams., endêmica nas savanas da África Ocidental, porém, de ocorrência rara (Thothathri e Jain, 1981, citados por WUTKE, 1987).

De um modo geral, o gênero *Cajanus* é freqüentemente encontrado nas regiões tropicais e subtropicais, notadamente em países da Ásia, África e América Latina (NENE et al., 1990).

A espécie *Cajanus cajan* (L.) Millsp., conhecida como guandu, 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 (CRONQUIST, 1981; WUTKE, 1987). Apesar do centro de origem da espécie *Cajanus cajan* permanecer incerto, é provável que seja originária da Índia, onde é muito cultivada (Gooding, 1962, citado por WERNER, 1979), ou nativa da África, de onde teria se deslocado para a Índia e, posteriormente, introduzida na América Central e do Sul, na época do descobrimento do Novo Mundo pelos europeus (WUTKE, 1987).

As plantas caracteristicamente são perenes, eretas, arbustivas, com 1 a 3 m de altura, folhas trifolioladas, com pequenas glândulas na superfície. Na Índia, onde se concentra aproximadamente 90% da produção mundial, a semeadura ocorre principalmente na estação chuvosa, desenvolvendo-se na estação seca subsequente por meio da água armazenada no solo, sendo expostos à períodos de seca passageira durante o desenvolvimento vegetativo (NENE et al., 1990). Além disso, crescem em solos pobres (ABRUNA et al., 1984), apresentando, também, adaptação aos mais variados tipos de solo, desde arenosos aos argilosos pesados, desenvolvendo-se satisfatoriamente na faixa de pH de 5,0 a 7,0 (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 1979; NENE et al., 1990).

Apesar de existir fatores limitantes para um amplo cultivo, visto que o guandu é muito sensível ao alagamento e à geada (Gooding, 1962, citado por WERNER, 1979; NENE et al., 1990), para o produtor rural, o guandu proporciona baixos custos de produção que se reflete diretamente no lucro da atividade pecuária e melhorias na fertilidade do solo, decorrentes da habilidade que esta forrageira apresenta para a fixação simbiótica de nitrogênio no solo (PONS, 2002). Considerando que, dificilmente uma única cultura tenha capacidade para fornecer forragem durante o ano todo, a característica que o guandu apresenta de crescer em períodos adversos, que limitam o crescimento de outras forrageiras, constitui-se em uma importante alternativa para a provisão de alimento de alta qualidade e redução de custos com a colheita e o armazenamento de forragem no período da entressafra (RAO et al., 2002).

3.1. Cultivares

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, 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 para 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, para 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, para a alimentação humana, e o aumento do potencial de produção de sementes no Estado de São Paulo. Em virtude do 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).

IAPAR 43-Aratã

A cultivar IAPAR 43 Aratã foi desenvolvida para a produção de grãos. A rusticidade e valor nutritivo lhe valeram o nome de ARATÃ, “semente forte” em língua tupi. Esta cultivar, foi obtida através de ciclos de seleção massal em população anã precoce proveniente da Colômbia e introduzida no Brasil através do Centro Nacional de Pesquisa em Arroz e Feijão, da EMBRAPA. A cultivar IAPAR 43-Aratã foi selecionada para ciclo curto, esta característica, permite aos agricultores o aproveitamento de solos de baixa fertilidade, no período de safrinha, para a produção de grãos de alto valor

nutritivo, que têm sido utilizados com sucesso na alimentação das aves domésticas. Para a alimentação humana, esta cultivar equivale nutricionalmente ao feijão comum, nas dietas usuais no nosso país. Apresenta plantas eretas com formato tipo taça, crescimento determinado com altura de 1,0 a 1,5 metros, a maior concentração de vagens ocorre no terço superior das plantas e as flores possuem coloração amarelo-pálida. As vagens são retas, curtas e estreitas com três a cinco sementes arredondadas, predominantemente castanhas e peso médio de 7,0 gramas para 100 sementes. O ciclo da variedade IAPAR 43-Aratã é de aproximadamente 180 a 140 dias para os plantios em outubro e dezembro respectivamente e a produção média de grãos, observada no Paraná, variou de 1000 a 2000 kg ha⁻¹ (INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ, 1995).

3.2. Crescimento e desenvolvimento

O conhecimento da taxa de emergência e do crescimento das plântulas 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 a 60 g m⁻² 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 e NATARAJARATNAM, 1989), provavelmente devido ao aumento da quantidade de nutrientes disponíveis no solo (PUSTE e JANA, 1988), induzindo à nítidas diferenças fisiológicas entre as cultivares (BALASUBRAMANIAN e 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 e BUFARAH, 1988; VIEIRA e 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 e NARAYANAN, 1979).

O crescimento inicial mais lento pode ocorrer, principalmente, em virtude da menor área foliar das plântulas, já que a taxa de assimilação líquida do guandu é comparável com a de outras espécies com metabolismo fotossintético C_3 (Rowden et al., 1981 citados por NENE et al., 1990). A área foliar das plântulas 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 radical do guandu é menos vigoroso e mais lento se comparado com outras leguminosas forrageiras como a *Vigna* (BRAKKE e GARDNER 1987).

3.3. 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 e MALIK, 1993).

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

As plantas de guandu sob estresse hídrico apresentam acentuada redução da massa seca e da área foliar (MUCHOW, 1982; WILSON e 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 E SRIVASTAVA, 1998).

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-se uma característica vantajosa, especialmente quando períodos de falta de água 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).

3.4. Alumínio

Como ocorre na maioria das plantas, a toxicidade 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 plântulas 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) são significativamente reduzidas (COSSOLINI, 2000; MARIN. 2000).

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

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

3.6. 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 (ASPINALL e PALEG, 1981; ZAIFNEJAD et al., 1997), por ser um aminoácido indicador de ambos estresses.

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).

4. Objetivos

O presente trabalho teve por objetivo estudar a influência associada do estresse hídrico e do alumínio na germinação e crescimento inicial do guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.), cultivar IAPAR 43-Aratã e cultivar IAC Fava larga. Também foram quantificados os teores de prolina da parte aérea, e verificada a tolerância diferencial do alumínio através do estudo da estrutura morfo-anatômica das raízes.

REFERÊNCIAS

- ABRUNA, F.; RIVERA, E.; RODRIGUEZ GARCIA, J. A. Crop response to soil acidity factors in Ultisols and Oxisols in Puerto Rico. **The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, Río Pedras, v. 68, p. 433-443, 1984.
- ALCÂNTARA, P. B.; BUFARAH, G. **Plantas forrageiras**: gramíneas & leguminosas. 4. ed. São Paulo: Nobel, 1988. 162 p.
- ALVES, S. J.; MEDEIROS, G. B. Leguminosas em renovação de pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE ECOSSISTEMAS DE PASTAGENS, 3., 1997, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 1997. p. 251-272.
- ASPINALL, D.; PALEG, L. G. Proline accumulation: Physiological aspects. In: PALEG, L. G.; ASPINALL, D. (Ed.). **The physiology and biochemistry of drought resistance in plants**. Sydney: Academic Press, 1981. p. 215-228.
- 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. 6-11, 1989.
- BENNET, R. J.; BREEN, C. M. Aluminum toxicity: towards an understanding of how plant roots react to physical environment. In: RANDALL, P. J. (Ed.). **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.
- 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.
- BONATO, C. M.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA, V.; VENEGAS, H. A. Efeito do alumínio sobre a absorção, a partição e a utilização de enxofre em sorgo. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 12, n. 1, p. 17-24, 2000.
- BRADFORD, K. J. Water relations in seed germination. In: KIGEL, J.; GALILI, J. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 351-395.
- 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.
- BURLE, M. L.; RODRIGUES, G. C. Relações hídricas internas da soja sob deficit hídrico em condições de campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 6, p. 905-913, 1990.
- 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. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 2, n. 2, p. 47-52, 1990.

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, A. R. **As relações hídricas das plantas vasculares (12º parte)**. Relações Hídricas: Universidade de Évora, 2003. Disponível em: <<http://www.ensino.uevora.pt/fv/RH/Rhw12.pdf>>. Acesso em: 20 jan. 2003.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia Press, 1981. 1262 p.

CUNHA, A. G.; MELLO SOBRINHO, C.; SALLES, D. O.; PINTO, G. C.; GUIMARÃES, J. C. C.; GOMES, S. G. **Dicionário etimológico Nova Fronteira da língua portuguesa**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. 963 p.

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

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. EMBRAPA. Nutrição de plantas forrageiras em solos tropicais ácidos. In: SEMINÁRIO DO CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE GADO DE CORTE, 1979, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: EMBRAPA, CNPGC, 1979. p. 4-18.

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

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.

- 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.
- GALVEZ, L.; CLARK, R. B.; KLEPPER, L. A.; HANSEN, L. Organic acid and free proline accumulation and nitrate reductase activity in sorghum *Sorghum bicolor* genotypes differing in aluminum tolerance. **Plant and Soil**, The Hague, v. 137, p. 859-867, 1991.
- GERASKIS, P. A.; GUERRERO, F. P.; WILLIAMS, W. A. Growth, water relations and nutrition of three grassland annuals as affected by drought. **The Journal of Applied Ecology**, Oxford, v. 12, n. 1, p. 125-135, 1975.
- GUO, C.; OOSTERHUIS, D. M. Effect of water-deficits stress and genotypes on pinitol occurrence in soybean plants. **Environment and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 37, p. 2-5, 1997.
- HAMEL, F.; BRETON, C.; HOUDE, M. Isolation and characterization of wheat aluminum-regulated genes: possible involvement of aluminum as a pathogenesis response elicitor. **Planta**, Berlin, v. 205, p. 531-538, 1998.
- HARDEGREE, S. P.; EMMERICH, W. E. Seed germination in response to polyethylene glycol solution. **Seed Science & Technology**, Bassersdorf, v. 22, p. 1-7, 1994.
- HAYNES, R. J. Competitive aspects of the grass legume association. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 33, p. 227-261, 1980.
- 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).
- 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**, Crawley, v. 39, n. 1, p. 109-117, 1993.

- INGRAN, J.; BARTELS, D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 47, p. 377-403, 1996.
- KOCHIAN, L. V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 46, p. 237-260, 1995.
- 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**, Monticello, 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.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: RiMa Artes e Textos, 2000. 531 p.
- 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.
- 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.
- MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. 251 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.

- 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.; 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.
- 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.
- 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. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 7, n. 2, p.129-134, 1995.
- POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: Ministério da Agricultura / AGIPLAN, 1977. 289 p.
- 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.

- PONS, L. **Pigeonpea May Fill Seasonal Forage Gap**. ARS News Service, Agricultural Research Service, 2002. Disponível em: <<http://www.ars.usda.gov/is/pr/2002/020808.htm>>. Acesso em: 08 ago. 2002.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

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.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 3. ed. Sunderland: Sinauer Associates., 2002. 757 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**, Rockville, v. 100, p. 309-318, 1992.

TURNER, N. C.; BEGG, J. E. Responses of pasture plants to water deficit. In: WILSON, J. R. (Ed.). **Plant relations in pastures**. Melbourne: CSIRO, 1978. p.50-60.

van WAMBEKE, A. Formation, distribution and consequences of acid soils in agricultural development. In: WRIGHT, M. J. (Ed.). **Plant adaptation to mineral stress in problem soils**. Ithaca: Cornell University, 1976. p.15-24.

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.

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

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.

WALLACE, A. Interactions of water stress and aluminum stress in barley and sunflower cultivars. **Journal of Plant Nutrition**, Monticello, v. 13, n. 3-4, p. 425-436, 1990.

- 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**, Melbourne, v. 49, p. 3-169, 1983.
- WRIGHT, R. J. Soil aluminum toxicity and plant growth. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Monticello, v. 20, p. 1479-1497, 1989.
- WUTKE, E. B. **Caracterização fenológica e avaliação agronômica 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.
- YANG, Y. H.; ZHANG, H. Y. Effect of citric acid on aluminum toxicity in the growth of mungbean seedlings. **Journal of Plant Nutrition**, Monticello, v. 21, n. 5, p. 1037-1044, 1998.
- 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**, Monticello, v. 22, n. 4-5, p. 693-700, 1999.
- 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.

CAPITULO 2 - GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE GUANDU (*Cajanus cajan* (L.) MILLSP.) SOB EFEITO DA DISPONIBILIDADE HÍDRICA E CONCENTRAÇÕES DE ALUMÍNIO

RESUMO - O objetivo do presente trabalho foi verificar a germinação de sementes das cultivares de guandu, (IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga), sob efeito da disponibilidade hídrica e concentrações de alumínio. As sementes foram colocadas em caixas de germinação, previamente esterilizadas, revestida com uma folha de papel germibox umedecida, com diferentes concentrações de PEG 6000 (0,0; -0,6; -0,9, -1,2 e -1,5 MPa) e de sulfato de alumínio (0,0; 2,5; 5,0; 7,5; e 10,0 mmol dm⁻³). O experimento foi conduzido em câmara de germinação, na temperatura de 25°C±1°C. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2x5x5 (cultivar x disponibilidade hídrica x alumínio), com quatro repetições de 50 sementes. A porcentagem de germinação foi avaliada no 4º e 10º dia após o início do experimento. No 10º dia, as plântulas foram separadas em plúmulas e raízes primárias, para determinação da massa seca. A disponibilidade hídrica foi limitante para a germinação e quantidade de massa seca. Os efeitos do alumínio associados ao estresse hídrico foram evidenciados somente até -0,9 MPa. A presença de baixas concentrações de alumínio, aproximadamente 4,0 mmol dm⁻³ estimularam o desenvolvimento das plântulas em condições de estresse hídrico de até -0,6 MPa. A germinação da cultivar IAPAR 43-Aratã foi mais tolerante aos efeitos simultâneos da disponibilidade hídrica e do alumínio, enquanto que a cultivar IAC Fava Larga foi mais tolerante no estabelecimento da plântula, evidenciado pelo maior vigor das plantas jovens.

Palavras chave: Estresse Hídrico, Forrageira, Leguminosa, Toxicidade de Alumínio

Introdução

Cajanus cajan (L.) Millsp., (Fabaceae), forrageira conhecida como guandu, ocupa mundialmente o 6º lugar em importância alimentar dentre as leguminosas, sendo usada extensivamente na Ásia, tanto para alimentação animal como para alimentação humana. Para o produtor rural, o guandu proporciona baixos custos de produção que refletem diretamente no lucro da atividade pecuária e melhorias na fertilidade do solo, decorrentes da habilidade que esta forrageira apresenta para a fixação simbiótica de nitrogênio no solo (PONS, 2002). Considerando que, dificilmente, uma única cultura tenha capacidade para prover forragem durante o ano todo, a característica que o guandu apresenta de crescer em períodos adversos que limitam o crescimento de outras forrageiras, constitui-se em uma 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).

No Brasil, a cultura do guandu foi introduzida, principalmente, devido à habilidade de ser resistente à seca e de crescer em solos pobres, apresentando bons resultados como fornecedora de massa verde nos pastos em períodos de chuvas escassas, além de ser uma planta muito versátil adaptada às condições climáticas do país, sendo utilizada também na rotação de culturas (ALVES e MEDEIROS, 1997). As cultivares IAPAR 43- Aratã e IAC Fava Larga além de serem utilizadas como plantas forrageiras também possuem outras características importantes. A cultivar IAPAR 43-Aratã permite aos agricultores o aproveitamento de solos de baixa fertilidade, no período de safrinha, produzindo grãos de alto valor nutritivo (INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ, 1995), e a cultivar IAC Fava Larga também pode ser utilizada como adubo verde, contribuindo para cobertura do solo e para a restauração e manutenção da sua capacidade produtiva (INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS, 1989).

Os estresses abióticos, como a seca, reduzem significativamente o rendimento das lavouras restringindo as latitudes e os solos onde espécies comercialmente importantes podem ser cultivadas (NEPOMUCENO et al., 2001). A condição hídrica do substrato, isto é, potenciais hídricos muito negativos, de um modo geral, provocam

atraso ou mesmo diminuição na porcentagem de germinação, porém, o mínimo de umidade a ser atingido pela semente para que a germinação ocorra, depende de sua composição química e da permeabilidade do tegumento (BRADFORD, 1995).

Além das condições hídricas desfavoráveis existentes no solo, a acidez também pode interferir negativamente no estabelecimento de uma cultura. Nas regiões tropicais e subtropicais os solos tendem a serem ácidos, pela ocorrência de elevada precipitação, que lixivia quantidades apreciáveis de bases permutáveis, como cálcio, magnésio, potássio e sódio, ou pela ausência de minerais primários e secundários, responsáveis pela reposição dessas bases. Sendo assim, devido a grandes áreas de solos ácidos aráveis, a importância da acidez sob o aspecto prático é relevante comparando-se com solos alcalinos (CUSTÓDIO et al., 2002). A condição de acidez elevada resulta na dissolução de minerais de argila e óxido de alumínio, conduzindo ao aparecimento de forma trocável, sendo assim a disponibilidade do alumínio é uma consequência da acidez do solo (MALAVOLTA, 1980), que limita a produtividade da cultura em solos ácidos (BONATO et al., 2000; CUSTÓDIO et al., 2002).

O alumínio trocável dos solos pode reduzir a germinação, exercendo influências negativas sobre o metabolismo das sementes (CRUZ et al., 1995). Existem muitas informações sobre os efeitos do alumínio na germinação de sementes, mas quando se consideram os efeitos sobre as sementes de leguminosas forrageiras, tais informações são praticamente inexistentes (SOUZA FILHO e DUTRA, 1998). Além disso, os estudos sobre os efeitos isolados do estresse hídrico ou da toxicidade do alumínio influenciando a germinação de sementes são pouco relatados na literatura, e as informações sobre o efeito concomitante dos estresses hídrico e do alumínio são escassas, carecendo ainda de estudos mais detalhados (ZAIFNEJAD et al., 1997).

Deste modo, no presente trabalho verificou-se a germinação de sementes de duas cultivares de guandu, IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, sob efeito da disponibilidade hídrica e concentrações de alumínio, visando obter informações sobre o grau de tolerância das cultivares à essas condições adversas.

Material e Métodos

Os experimentos foram instalados no laboratório de Fisiologia Vegetal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, FCAV, Universidade Estadual Paulista, UNESP, Campus de Jaboticabal, SP. As sementes da cultivar IAPAR 43-Aratã foram provenientes da empresa PIRAÍ SEMENTES, município de Piracicaba, SP e as sementes da cultivar IAC Fava Larga foram provenientes da empresa SEMENTES FORTE, município de Jaboticabal, SP. Tais sementes foram armazenadas em condições adequadas de temperatura e umidade (câmara fria a 4°C e 13% de umidade). As sementes utilizadas foram previamente selecionadas e tratadas com uma mistura 1:1 dos fungicidas Benlate 500 PM e Euparem M 500 PM na dose de 1 g kg⁻¹ de sementes, para o controle do crescimento de fungos que interferem na adequada germinabilidade das sementes de guandu.

Para verificar a influência da disponibilidade hídrica (H) e do alumínio (A), na germinação de sementes das cultivares (C), IAPAR 43-Aratã (C1) e IAC Fava Larga (C2), foram utilizadas diferentes concentrações de polietilenoglicol (PEG 6000) e sulfato de alumínio (Al₂(SO₄)₃.18 H₂O), simulando distintas situações de disponibilidade hídrica, através da obtenção dos seguintes potenciais osmóticos (VILLELA et al., 1991), em MPa (ψ_s): 0,0 (H1); -0,6 (H2); -0,9 (H3), -1,2 (H4) e -1,5 (H5) e das concentrações crescentes de alumínio (Al³⁺), em mmol dm⁻³: 0,0 (A1); 2,5 (A2); 5,0 (A3); 7,5 (A4); e 10,0 (A5).

Para avaliar a porcentagem de germinação de sementes, de cada cultivar, foram colocadas 50 sementes em cada caixa de germinação do tipo gerbox, previamente esterilizada, revestida com uma folha de papel germibox umedecido com as soluções. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado no esquema fatorial 2x5x5, com os fatores: cultivares (C1 e C2), disponibilidades hídricas (H1, H2, H3, H4 e H5) e concentrações de alumínio (A1, A2, A3, A4 e A5), com quatro repetições por tratamento. O experimento foi conduzido em germinador FANEN mod. 347 CDG na temperatura de 25°C ± 1°C, com fotoperíodo de 12 horas. A contagem das sementes germinadas foi realizada a cada 24 horas, considerando-se o critério botânico da

protusão da radícula $\geq 2\text{mm}$ (DURAN e ESTRELLA-TORTOSA, 1985). A porcentagem de germinação foi avaliada no 4º e 10º dia após a semeadura como indicada para a cultura do guandu pelas Regras para Análise de Sementes, RAS (BRASIL, 1992). Ressalta-se que, neste trabalho somente considerou-se as normas da RAS para o critério tempo acima citado, sem que houvesse qualquer avaliação quanto ao critério de germinação de plântulas normais. As soluções nas caixas gerbox foram renovadas a cada três dias para manterem-se constantes os valores dos potenciais osmóticos e das concentrações de Al^{3+} . O experimento foi finalizado no 10º dia, quando então foram separadas as partes vegetativas das plântulas, em plúmulas e raízes, que foram secas em estufa de circulação forçada de ar em temperatura de 80°C , e a massa seca, determinada em balança analítica Denver Instrument Company AA-200.

Para a análise dos resultados obtidos foi empregado, primeiramente, o tratamento estatístico das características individuais. Os dados foram, primeiramente, analisados quanto a homocedasticidade (SANTANA e RANAL, 2000) pelo teste de Levene, e a partir da transformação adequada dos dados, foi realizada a análise de variância pelo teste F utilizando-se do teste de Tukey para a comparação entre médias. A análise da regressão polinomial foi utilizada para o desdobramento dos graus de liberdade dos níveis de disponibilidade hídrica x alumínio (BANZATTO e KRONKA, 1995). A seguir, na complementação da análise estatística foram realizadas as análises multivariadas de agrupamento e de componentes principais, que permitiram uma avaliação em conjunto de todas as avaliações fisiológicas (MANLY, 1994). Salienta-se que, a análise de agrupamento engloba uma variedade de técnicas e algoritmos cujo objetivo é encontrar e separar objetos em grupos similares (SNEATH e SOKAL, 1973). Também, para verificar a medida de similaridade, entre os tratamentos (MANLY, 1994), foi adotada a Distância Euclidiana, e para a estratégia de agrupamento utilizou-se o método UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean).

Resultados e Discussão

A análise de variância da germinação de sementes (Tabela 1) mostrou que, exceto para os resultados das interações cultivares x alumínio (C x A), para avaliação no 4º dia, e cultivares x disponibilidade hídrica x alumínio (C x H x A) para avaliação no 10º dia após o início do experimento, houve acentuado efeito da disponibilidade hídrica e das concentrações de alumínio (Tabela 1). A cultivar IAPAR 43-Aratã apresentou maior porcentagem de sementes germinadas que a cultivar IAC Fava Larga, respectivamente para as avaliações no 4º e 10º dia (Tabela 1).

Tabela 1. Análise de variância da porcentagem de germinação de sementes de guandu, IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, sob condições simultâneas de disponibilidade hídrica e de alumínio, para as avaliações realizadas no 4º e no 10º dia.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios	
		Germinação de Sementes (%) ¹	
		4º DIA	10º DIA
Cultivares (C)	1	665,1065**	268,1071**
Disponibilidade Hídrica (H)	4	41460,8993**	50512,6452**
Alumínio (A)	4	120,5696**	143,8543**
Interação (CxH)	4	183,3718**	225,4029**
Interação (CxA)	4	30,4089 ^{ns}	106,7114**
Interação (HxA)	16	103,1205**	89,0069**
Interação (CxHxA)	16	51,7289**	46,7922 ^{ns}
Resíduo	150	16,7785	30,8687
C.V.(%)		20,4350	16,9761
Médias e teste de Tukey²			
IAPAR 43-Aratã		21,8684 A	33,8860 A
IAC Fava Larga		18,2212 B	31,5704 B

^{ns} : não significativo (P > 0,05);

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

¹ Dados de % de germinação transformados em arco seno $\sqrt{x/100}$;

² Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (P > 0,05).

Para a interação das cultivares, em cada disponibilidade hídrica (C x H), no 4º dia (Tabela 1), houve apenas um decréscimo significativo na porcentagem de germinação nos potenciais osmóticos de 0,0 e -0,6 MPa, não se constatando diferença significativa entre os potenciais mais elevados, -0,9 a -1,5 MPa (Tabela 2). Todavia, nestes potenciais osmóticos mais elevados a germinação de ambas cultivares não diferiu entre si, provavelmente, devido a um maior ajuste osmótico que as sementes da cultivar IAC Fava Larga possam apresentar quando em condições mais severas de estresse hídrico. Também em potenciais osmóticos de 0,0; -0,2 e -0,4 MPa, observaram-se (KUHAD e SHEORAN, 1987) que houve uma redução na porcentagem de germinação de sementes de quatro cultivares de guandu, evidenciando diferenças entre as cultivares nestas condições.

Para a variável disponibilidade hídrica e alumínio (H x A), o desdobramento da porcentagem de germinação no 4º dia, de ambas cultivares em resposta aos estresses, revelou respostas significativas (Tabela 3; Figura 1). Na interação H x A, o desdobramento dos graus de liberdade mostrou, independentemente da concentração de alumínio, uma diminuição na porcentagem de germinação proporcionalmente ao aumento do estresse hídrico (Figura 1), e o comportamento das regressões do alumínio foram similares (Figura 1A). Observou-se variação significativa apenas no potencial osmótico de -0,6 MPa, com tendência de aumento na porcentagem de germinação até a concentração de 4,08 mmol dm⁻³ e posterior diminuição, nas concentrações mais elevadas (Figura 1B). Para a interação C x H no 10º dia, verificou-se um decréscimo significativo na germinação das sementes da cultivar IAC Fava Larga nos potenciais osmóticos menos severos (Tabela 2), sendo os resultados do 10º dia similares aos encontrados no 4º dia. Estes resultados permitem considerar a cultivar IAC Fava Larga tolerante ao estresse hídrico, (SANTOS e RODRIGUES, 1998), pois nos primeiros 10 dias a germinação de sementes desta cultivar também não foi rigorosamente influenciada pela restrição hídrica severa (ψ_s de -1,0 MPa). Todavia, a acentuada diminuição da germinação de sementes da cultivar IAPAR 43-Aratã no ψ_s -0,9 MPa pode ser considerado um dado aleatório, visto que em ψ_s tanto menores quanto maiores, não houve resposta de redução da germinação.

Tabela 2. Teste de Tukey para a germinação de sementes de guandu, IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga sob efeito da disponibilidade hídrica (C x H) no 4º e 10º dia, e sob efeito do alumínio (C x A) no 10º dia.

Cultivares	Médias e teste de Tukey ¹				
	Disponibilidade Hídrica (MPa)				
	0,0	-0,6	-0,9	-1,2	-1,5
Germinação de Sementes no 4º dia (%) ²					
IAPAR 43-Aratã	78,4130A	27,7826A	2,3364A	0,4051A	0,4051A
IAC Fava Larga	71,5268B	18,3640B	0,4051A	0,4051A	0,4051A
Germinação de Sementes no 10º dia (%) ²					
IAPAR 43 Aratã	79,0034A	68,3653A	20,0921B	1,5639A	0,4051A
IAC Fava Larga	73,5963B	59,7834B	23,6618A	0,4051A	0,4051A
	Alumínio (mmol dm ⁻³)				
	0,0	2,5	5,0	7,5	10,0
	Germinação de Sementes no 10º dia (%) ²				
IAPAR 43 Aratã	33,3247A	34,1162A	35,4922A	34,2260A	32,2708A
IAC Fava Larga	35,3103A	34,4079A	31,6320B	28,6743B	27,8272B

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

²Dados de % de germinação transformados em arco seno $\sqrt{x/100}$.

Quanto aos efeitos do alumínio, verificou-se redução apenas na germinação das sementes da cultivar IAC Fava Larga, proporcionalmente ao aumento das concentrações (Tabela 2). Para a interação disponibilidade hídrica e alumínio (H x A), o desdobramento da porcentagem de germinação no 10º dia, para ambas cultivares em resposta aos estresses, revelou respostas significativas (Tabela 4; Figura 2). Em cada concentração de alumínio, houve uma diminuição na porcentagem de germinação, proporcionalmente à diminuição de água (Figura 2A). Também, as linhas de regressões das concentrações de alumínio estão muito próximas e com acentuado declínio, porém, nos potenciais osmóticos de -0,6 MPa e -0,9 MPa, ocorreu um distanciamento dos pontos revelando efeito significativo do alumínio. No tratamento de -0,6 MPa (Figura 2B) houve uma tendência de aumento na porcentagem de germinação até a

Tabela 3. Regressão polinomial da germinação de sementes de guandu, IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, sob condições simultâneas de disponibilidade hídrica e de alumínio, para a avaliação realizada no 4º dia.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios ¹
		Germinação de Sementes no 4º dia (%)
R.L. para H. d. A1	1	26770,1466**
R.Q. para H. d. A1	1	4919,8779**
R.C. para H. d. A1	1	1,1691 ^{ns}
D.R. para H. d. A1	1	69,0773**
R.L. para H. d. A2	1	8192,6187**
R.Q. para H. d. A2	1	24917,8751**
R.C. para H. d. A2	1	1420,2345**
D.R. para H. d. A2	1	75,6173**
R.L. para H. d. A3	1	29750,7921**
R.Q. para H. d. A3	1	3708,3623**
R.C. para H. d. A3	1	388,8819**
D.R. para H. d. A3	1	515,0071**
R.L. para H. d. A4	1	28049,2570**
R.Q. para H. d. A4	1	5126,4308**
R.C. para H. d. A4	1	27,8873 ^{ns}
D.R. para H. d. A4	1	203,8053**
R.L. para H. d. A5	1	25089,3956**
R.Q. para H. d. A5	1	7967,9582**
R.C. para H. d. A5	1	291,2379**
D.R. para H. d. A5	1	7,8934 ^{ns}
R.L. para A. d. H1	1	0,0441 ^{ns}
R.Q. para A. d. H1	1	12,4060 ^{ns}
R.C. para A. d. H1	1	2,0617 ^{ns}
D.R. para A. d. H1	1	1,5058 ^{ns}
R.L. para A. d. H2	1	564,7138**
R.Q. para A. d. H2	1	1474,6347**
R.C. para A. d. H2	1	3,5843 ^{ns}
D.R. para A. d. H2	1	28,5002 ^{ns}
R.L. para A. d. H3	1	18,6485 ^{ns}
R.Q. para A. d. H3	1	4,7953 ^{ns}
R.C. para A. d. H3	1	18,6485 ^{ns}
D.R. para A. d. H3	1	2,6641 ^{ns}
Resíduo	150	16,7785

¹Dados de % de germinação transformados em arco seno $\sqrt{x/100}$;

^{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.

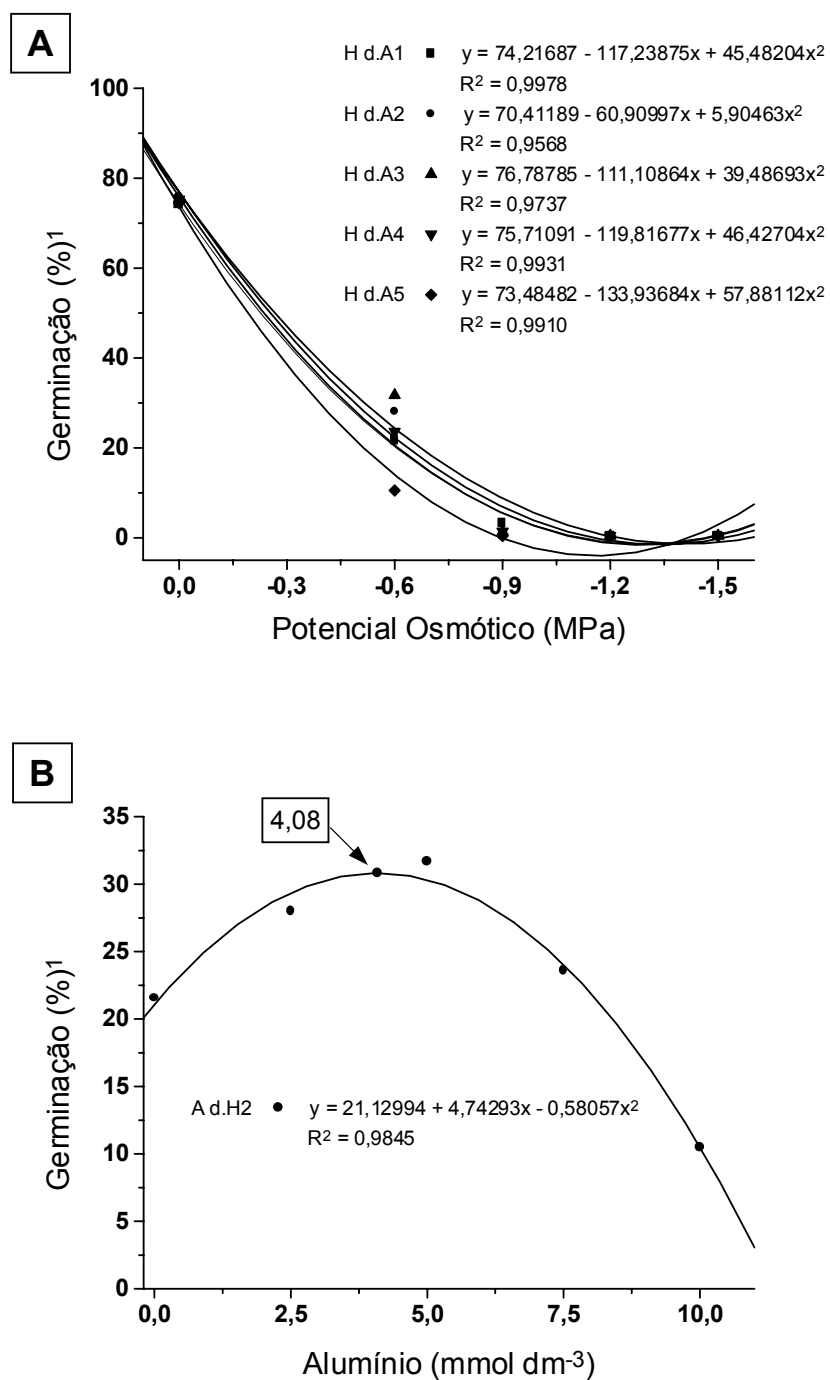


Figura 1. Germinação de sementes de guandu, IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, sob condições simultâneas de disponibilidade hídrica e de alumínio, para avaliação realizada no 4º dia. **A.** Disponibilidade hídrica dentro de cada concentração de alumínio. **B.** Alumínio dentro da disponibilidade hídrica de -0,6 MPa.

¹Dados de % de germinação transformados em arco seno $\sqrt{x/100}$.

Tabela 4. Regressão polinomial da germinação de sementes de guandu, IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, sob condições simultâneas de disponibilidade hídrica e de alumínio, para a avaliação realizada no 10º dia.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios ¹
		Germinação de Sementes no 10º dia (%)
R.L. para H. d. A1	1	33918,3438**
R.Q. para H. d. A1	1	391,9806**
R.C. para H. d. A1	1	3161,1809**
D.R. para H. d. A1	1	18,3324 ^{ns}
R.L. para H. d. A2	1	37872,1763**
R.Q. para H. d. A2	1	195,2028*
R.C. para H. d. A2	1	4192,3904**
D.R. para H. d. A2	1	41,5392 ^{ns}
R.L. para H. d. A3	1	37349,5620**
R.Q. para H. d. A3	1	202,2748*
R.C. para H. d. A3	1	5351,4139**
D.R. para H. d. A3	1	349,9494**
R.L. para H. d. A4	1	37135,0776**
R.Q. para H. d. A4	1	0,0212 ^{ns}
R.C. para H. d. A4	1	5098,7884**
D.R. para H. d. A4	1	917,7582**
R.L. para H. d. A5	1	34351,9445**
R.Q. para H. d. A5	1	68,5278 ^{ns}
R.C. para H. d. A5	1	2689,6569**
D.R. para H. d. A5	1	168,5706*
R.L. para A. d. H1	1	0,2370 ^{ns}
R.Q. para A. d. H1	1	15,9347 ^{ns}
R.C. para A. d. H1	1	13,8665 ^{ns}
D.R. para A. d. H1	1	10,1527 ^{ns}
R.L. para A. d. H2	1	264,1711**
R.Q. para A. d. H2	1	507,8857**
R.C. para A. d. H2	1	42,1479 ^{ns}
D.R. para A. d. H2	1	5,0110 ^{ns}
R.L. para A. d. H3	1	888,3474**
R.Q. para A. d. H3	1	44,0796 ^{ns}
R.C. para A. d. H3	1	130,4250*
D.R. para A. d. H3	1	23,5613 ^{ns}
Resíduo	150	30,8687

¹Dados de % de germinação transformados em arco seno $\sqrt{x/100}$;

^{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.

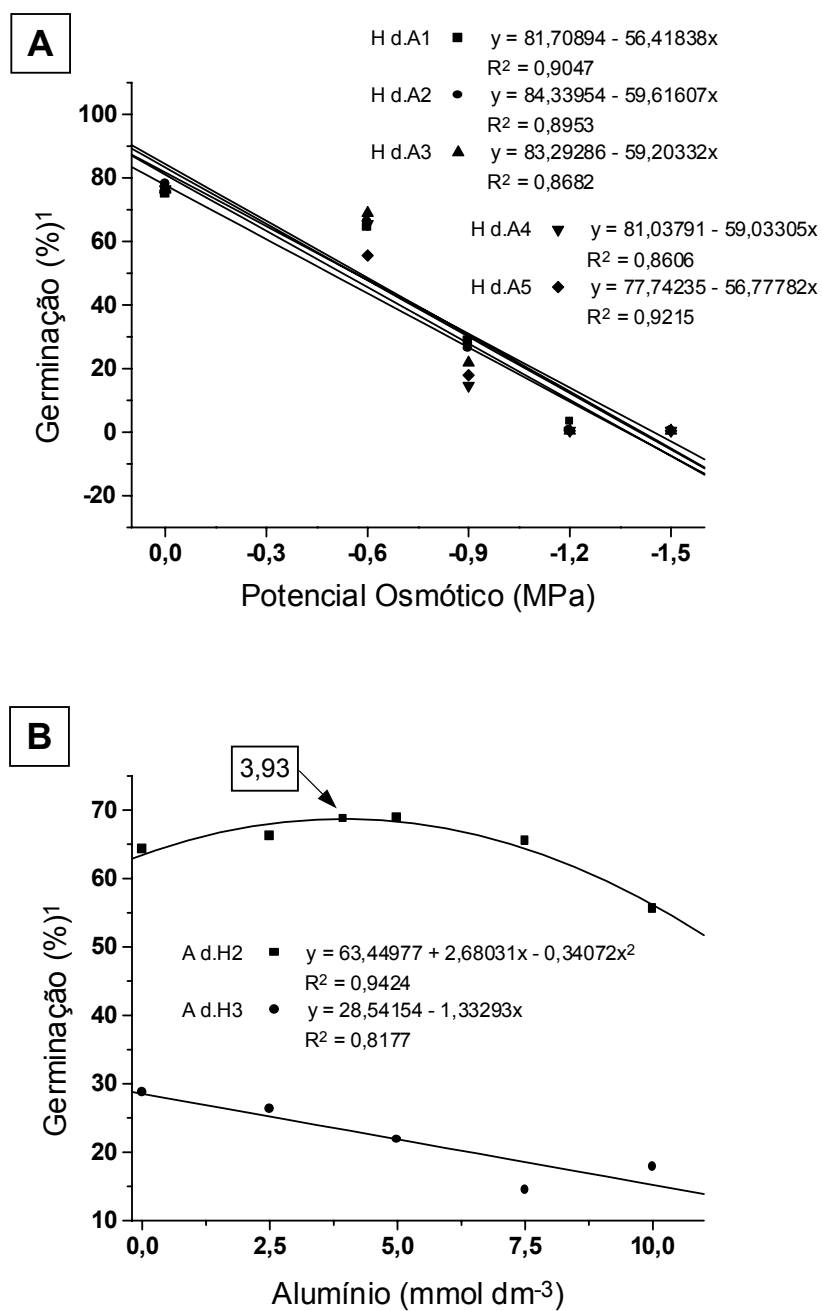


Figura 2. Germinação de sementes de guandu, IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, sob condições simultâneas de disponibilidade hídrica e de alumínio, para avaliação realizada no 10º dia. **A.** Disponibilidade hídrica dentro de cada concentração de alumínio. **B.** Alumínio dentro da disponibilidade hídrica de -0,6 MPa e -0,9MPa.

¹Dados de % de germinação transformados em arco seno $\sqrt{x/100}$.

concentração de $3,93 \text{ mmol dm}^{-3}$, e em ψ_s de $-0,9 \text{ MPa}$ houve uma diminuição linear acentuada da porcentagem de germinação, em resposta ao aumento das concentrações de alumínio. Salienta-se que o comportamento quadrático em ψ_s de $-0,6 \text{ MPa}$ é similar ao encontrado na germinação do 4º dia (Figura 1B), revelando que concentrações menos elevadas de alumínio podem causar efeito de estimulação, mesmo quando há moderada restrição hídrica no substrato. Porém, na restrição hídrica mais severa, de ψ_s de $-0,9 \text{ MPa}$ (Figura 2B), a menor quantidade de água disponível no substrato potencializou a ação do alumínio, provocando um significativo declínio da germinação das sementes das cultivares de guandu, no 10º dia.

A análise de variância da massa seca da parte aérea e do sistema radical de ambas cultivares, após 10 dias (Tabela 5), evidenciou que houve efeito significativo para a interação cultivares x alumínio (C x A), para a massa seca da parte aérea, enquanto para a interação cultivares x disponibilidade hídrica (C x H) houve efeito significativo para a massa seca do sistema radical. Também, houve efeito significativa da disponibilidade hídrica x alumínio (H x A) tanto na massa seca da parte aérea quanto no sistema radical.

Analisando os desdobramentos das interações C x A e C x H (Tabela 6), verificou-se que a cultivar IAPAR 43-Aratã apresentou uma redução do crescimento, na concentração de 10 mmol dm^{-3} de alumínio. As demais concentrações não provocaram qualquer diminuição do crescimento. O resultado da toxicidade do alumínio em $2,5 \text{ mmol dm}^{-3}$ para a cultivar IAC Fava Larga pode ser considerado um dado aleatório, haja vista que nenhuma outra concentração provocou diminuição da massa seca da parte aérea. Considerando os efeitos da disponibilidade hídrica, verifica-se que para a cultivar 43-Aratã houve diminuição significativa da massa seca do sistema radical nos potenciais osmóticos menos elevados ($0,0$ a $-0,9 \text{ MPa}$) indicando que esta cultivar possui maior sensibilidade a quantidades maiores de água no substrato que a IAC Fava Larga.

Tabela 5. Análise de variância da massa seca da parte aérea e do sistema radical de guandu, IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, sob condições simultâneas de disponibilidade hídrica e de alumínio, para as avaliações realizadas no 10º dia.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios	
		Massa Seca da Parte Aérea	Massa Seca do Sistema Radical
		(mg)	(mg)
Cultivares (C)	1	0,5197 ^{ns}	11,7611 ^{**}
Disponibilidade Hídrica (H)	4	867,9749 ^{**}	217,4312 ^{**}
Alumínio (A)	4	4,5468 ^{**}	6,5050 ^{**}
Interação (CxH)	4	0,3128 ^{ns}	3,7322 ^{**}
Interação (CxA)	4	3,1856 ^{**}	0,1702 ^{ns}
Interação (HxA)	16	3,8276 ^{**}	2,3459 ^{**}
Interação (CxHxA)	16	2,2839 ^{**}	0,4451 ^{ns}
Resíduo	150	0,3954	0,3058
C.V.(%)		28,1752	27,2027

ns: não significativo (P > 0,05);

** : significativo (P < 0,01)

Tabela 6. Teste de Tukey dos efeitos do alumínio (C x A) para massa seca da parte aérea e dos efeitos da disponibilidade hídrica (C x H) para massa seca do sistema radical de guandu, IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, para as avaliações realizadas no 10º dia.

Cultivares	Médias e teste de Tukey ³				
	Alumínio (mmol dm ⁻³)				
	0,0	2,5	5,0	7,5	10,0
	Massa Seca da Parte Aérea (mg)				
IAPAR 43 Aratã	2,1647A	2,8524A	2,6523A	2,4341A	1,3110B
IAC Fava Larga	2,0332A	2,1846B	2,4505A	2,0876A	2,1489A
	Disponibilidade Hídrica (MPa)				
	0,0	-0,6	-0,9	-1,2	-1,5
	Massa Seca do Sistema Radical (mg)				
IAPAR 43 Aratã	4,7618B	2,9393B	1,2009B	0,0500A	0,0000A
IAC Fava Larga	6,2293A	3,3913A	1,7574A	0,0000A	0,0000A

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

Para a interação disponibilidade hídrica e alumínio (H x A), o desdobramento da massa seca da parte aérea, para ambas cultivares em resposta aos estresses, revelou respostas significativas (Tabela 7). Os efeitos simultâneos da disponibilidade hídrica e do alumínio (Figura 3), provocaram, em ambas cultivares, uma diminuição na quantidade de massa seca da parte aérea proporcionalmente ao aumento do estresse, evidenciando acentuada proximidade dos efeitos das concentrações de alumínio (Figura 3A), confirmando que as plantas que se desenvolveram sob condições simultâneas de estresse hídrico e toxicidade de alumínio (Klimov e Rybakova, 1986 citados por ZAIFNEJAD et al., 1997), apresentaram uma maior redução no crescimento da parte aérea comparado com as plantas que se desenvolveram sob condições isoladas de estresse hídrico ou de toxicidade de alumínio.

No potencial osmótico de 0,0 MPa ocorreu uma tendência de aumento na quantidade de massa seca da parte aérea até a concentração de 3,99 mmol dm⁻³ de alumínio com posterior declínio nas concentrações mais elevadas. No potencial osmótico de -0,6 MPa a quantidade de massa seca da parte aérea foi muito baixa, e manteve-se praticamente estável, apresentando uma tendência quadrática que revelou um discreto aumento entre as concentrações de alumínio de 2,5 a 7,5 mmol dm⁻³, atingindo um máximo em 5,58 mmol dm⁻³ (Figura 3B). Estes resultados mostram que as baixas concentrações de alumínio (Andrew et al., 1973 citados por ROY et al., 1988) podem provocar nas leguminosas tropicais um aumento da massa, evidenciando um incremento no crescimento da planta.

Para a interação disponibilidade hídrica e alumínio (H x A), o desdobramento para massa seca do sistema radical de ambas cultivares em resposta aos estresses, revelou respostas significativas (Tabela 8; Figura 4). Os efeitos associados dos estresses revelaram que houve uma diminuição linear na quantidade de massa seca das raízes, proporcional ao aumento do estresse (Figura 4A), com variação significativa apenas nos potenciais osmóticos de 0,0 e -0,6 MPa (Figura 4B). Verificou-se que, no potencial osmótico de 0,0 MPa, houve uma diminuição da massa seca das raízes, proporcional ao aumento das concentrações de alumínio. Neste caso, somente o alumínio causou redução das raízes, visto que este tratamento não apresentava

Tabela 7. Regressão polinomial da massa seca da parte aérea de guandu, IAPAR-43 Aratã e IAC Fava Larga, sob condições simultâneas de disponibilidade hídrica e de alumínio, para a avaliação realizada no 10º dia.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios ³
		Massa Seca da Parte Aérea (mg)
R.L. para H. d. A1	1	447,7118**
R.Q. para H. d. A1	1	190,4943**
R.C. para H. d. A1	1	19,7302**
D.R. para H. d. A1	1	0,8078 ^{ns}
R.L. para H. d. A2	1	617,5351**
R.Q. para H. d. A2	1	239,9880**
R.C. para H. d. A2	1	18,7033**
D.R. para H. d. A2	1	0,2259 ^{ns}
R.L. para H. d. A3	1	639,6187**
R.Q. para H. d. A3	1	253,1107**
R.C. para H. d. A3	1	20,7950**
D.R. para H. d. A3	1	0,3271 ^{ns}
R.L. para H. d. A4	1	477,8302**
R.Q. para H. d. A4	1	171,0014**
R.C. para H. d. A4	1	10,2064**
D.R. para H. d. A4	1	0,0063 ^{ns}
R.L. para H. d. A5	1	295,9354**
R.Q. para H. d. A5	1	118,5589**
R.C. para H. d. A5	1	10,0860**
D.R. para H. d. A5	1	0,1851 ^{ns}
R.L. para A. d. H1	1	23,8995**
R.Q. para A. d. H1	1	51,5389**
R.C. para A. d. H1	1	0,9046 ^{ns}
D.R. para A. d. H1	1	0,5548 ^{ns}
R.L. para A. d. H2	1	0,2608 ^{ns}
R.Q. para A. d. H2	1	1,6660*
R.C. para A. d. H2	1	0,0668 ^{ns}
D.R. para A. d. H2	1	0,5264 ^{ns}
Resíduo	150	0,3954

^{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.

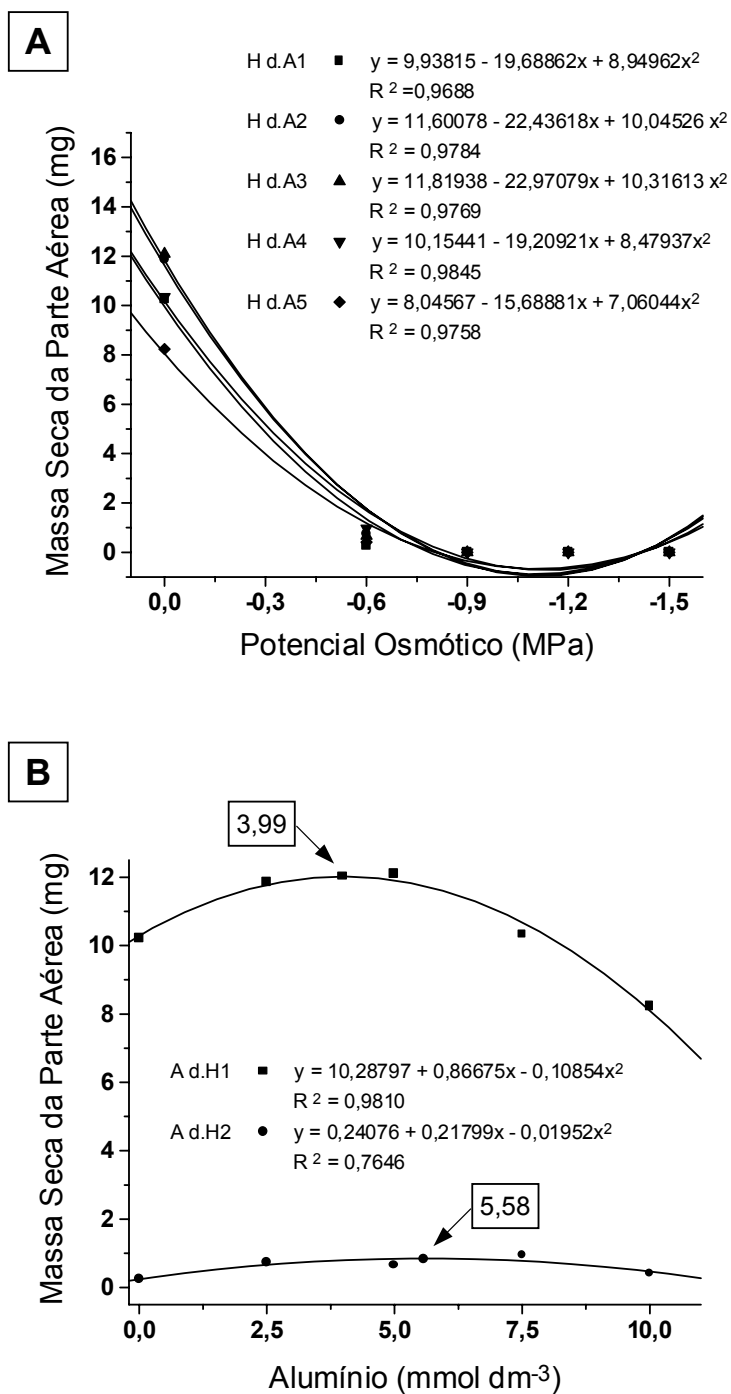


Figura 3. Massa seca da parte aérea de guandu, IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, sob condições simultâneas de disponibilidade hídrica e de alumínio, para avaliação realizada no 10º dia. **A.** Disponibilidade hídrica dentro de cada concentração de alumínio. **B.** Alumínio dentro da disponibilidade hídrica de 0,0 MPa e -0,6MPa.

Tabela 8. Regressão polinomial da massa seca do sistema radical de guandu, IAPAR-43 Aratã e IAC Fava Larga, sob condições simultâneas de disponibilidade hídrica e de alumínio, para a avaliação realizada no 10º dia.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios ³
		Massa Seca do Sistema Radical (mg)
R.L. para H. d. A1	1	240,4796**
R.Q. para H. d. A1	1	6,1939**
R.C. para H. d. A1	1	5,6654**
D.R. para H. d. A1	1	0,0006 ^{ns}
R.L. para H. d. A2	1	234,8939**
R.Q. para H. d. A2	1	2,0928**
R.C. para H. d. A2	1	10,7082**
D.R. para H. d. A2	1	0,1285 ^{ns}
R.L. para H. d. A3	1	188,7140**
R.Q. para H. d. A3	1	1,3862*
R.C. para H. d. A3	1	6,8500**
D.R. para H. d. A3	1	0,0600 ^{ns}
R.L. para H. d. A4	1	121,4988**
R.Q. para H. d. A4	1	1,2656*
R.C. para H. d. A4	1	3,3072**
D.R. para H. d. A4	1	0,1801 ^{ns}
R.L. para H. d. A5	1	84,4091**
R.Q. para H. d. A5	1	1,2590*
R.C. para H. d. A5	1	0,3543 ^{ns}
D.R. para H. d. A5	1	2,2207**
R.L. para A. d. H1	1	38,0701**
R.Q. para A. d. H1	1	1,0343 ^{ns}
R.C. para A. d. H1	1	0,5846 ^{ns}
D.R. para A. d. H1	1	0,1147 ^{ns}
R.L. para A. d. H2	1	17,7181**
R.Q. para A. d. H2	1	4,7640**
R.C. para A. d. H2	1	0,8086 ^{ns}
D.R. para A. d. H2	1	0,0106 ^{ns}
R.L. para A. d. H3	1	0,0240 ^{ns}
R.Q. para A. d. H3	1	0,0306 ^{ns}
R.C. para A. d. H3	1	0,1513 ^{ns}
D.R. para A. d. H3	1	0,1344 ^{ns}
Resíduo	150	0,3058

^{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.

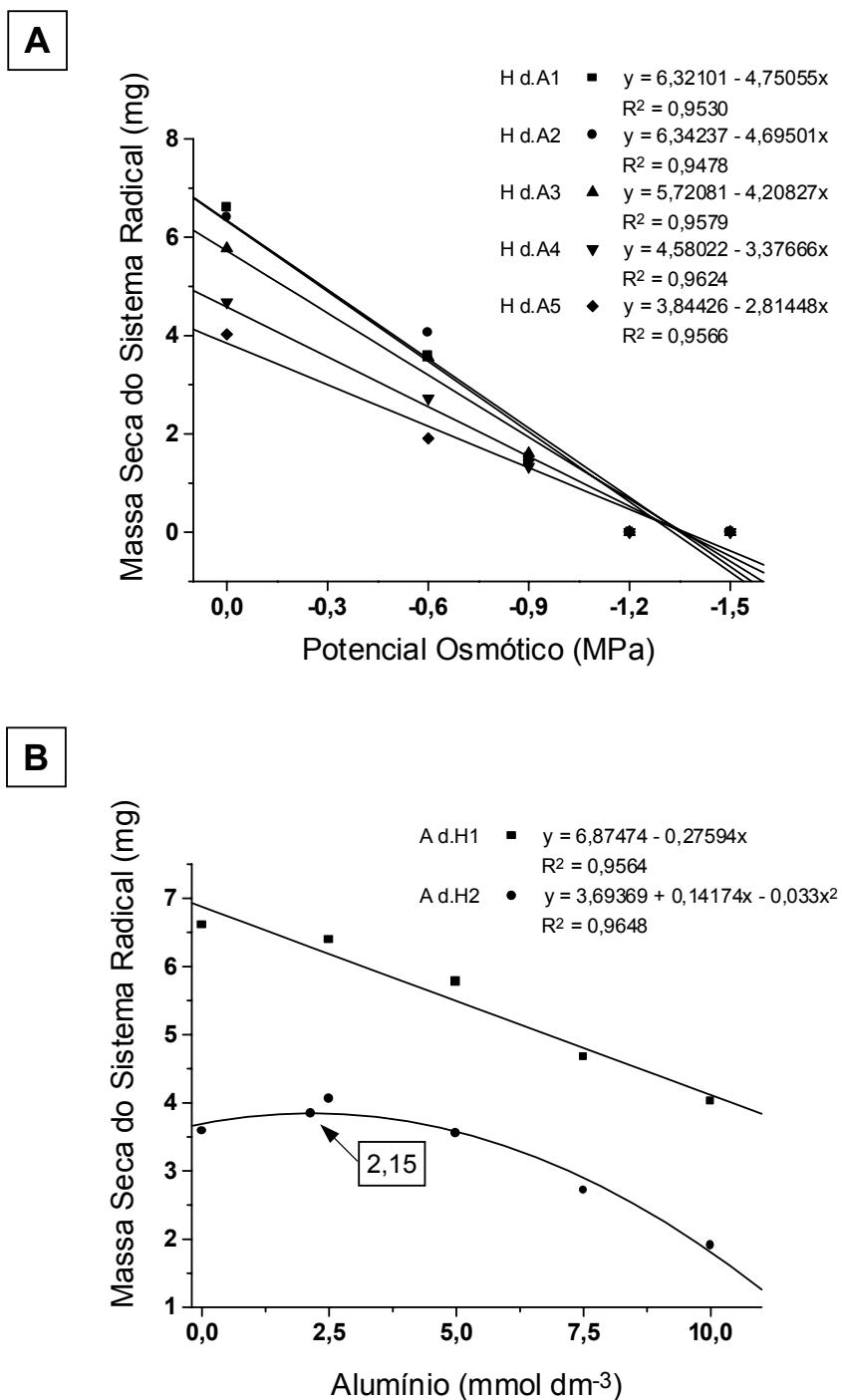


Figura 4. Massa seca do sistema radical de guandu, IAPAR 43 Aratã e IAC Fava Larga, sob condições simultâneas de disponibilidade hídrica e de alumínio, para avaliação realizada no 10º dia. **A.** Disponibilidade hídrica dentro de cada concentração de alumínio. **B.** Alumínio dentro da disponibilidade hídrica de 0,0 MPa e -0,6MPa.

qualquer restrição hídrica (Figura 4B). Na restrição hídrica de -0,6 MPa, ressalta-se que a quantidade de massa seca das raízes foi menor que a obtida no tratamento sem restrição hídrica, sendo que o menor acúmulo de massa seca ocorreu a partir da concentração de $2,15 \text{ mmol dm}^{-3}$ (Figura 4B), demonstrando que os efeitos simultâneos do estresse hídrico e do alumínio potencializam os estresses (Klimov e Rybakova, 1986 citados por ZAIJNEJAD et al., 1997), provocando uma maior redução no crescimento inicial do sistema radical.

Para uma avaliação em conjunto de todas as características fisiológicas o dendrograma resultante da análise de agrupamento dos tratamentos utilizados (Figura 5), mostra perfeitamente que o fator disponibilidade hídrica (H) discriminou cada grupo. As disponibilidades hídricas de -1,2 e -1,5 MPa (H4 e H5), formaram um único grupo mostrando que para o conjunto de todas as avaliações fisiológicas analisadas, não houve diferença entre estes tratamentos (Figura 5).

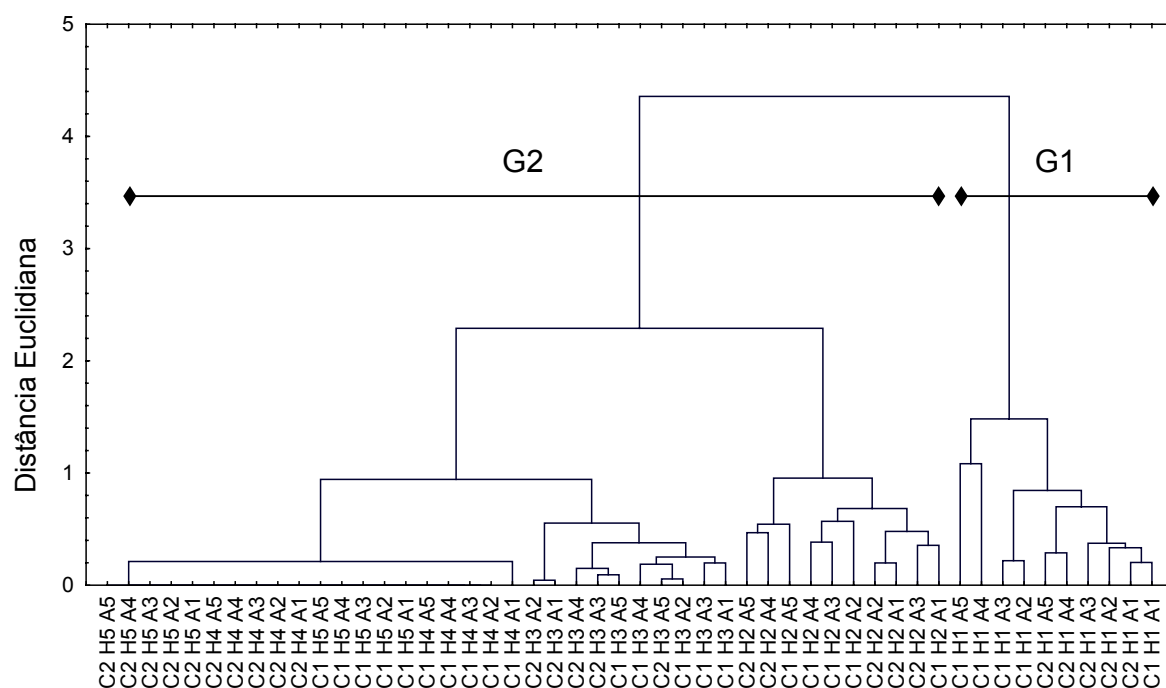


Figura 5. Dendrograma da análise de agrupamento dos tratamentos utilizados.

Os tratamentos com disponibilidades hídricas de -0,6 e -0,9 MPa (H2 e H3), embora apresentem uma nítida separação em função deste estresse, permaneceram no mesmo grupo (G2), havendo diferença somente entre a disponibilidade hídrica de 0,0 MPa (G1). Ainda com relação às cultivares (C1 e C2) e as concentrações de alumínio (A1, A2, A3, A4 e A5), não houve discriminação na formação de grupos, pois tanto C1 e C2 quanto A1, A2, A3, A4 e A5 apareceram indistintamente, dentro de cada grupo de disponibilidade hídrica (Figura 5).

A análise de componentes principais permitiu a construção do gráfico bidimensional (Figura 6). Como os dois primeiros componentes principais (CP 1 e CP 2) são os que mais retêm informações do conjunto original de variáveis e neste estudo acumulou 97,39% (Tabela 9), pode-se observar nítida separação do grupo H1 (Figura 6).

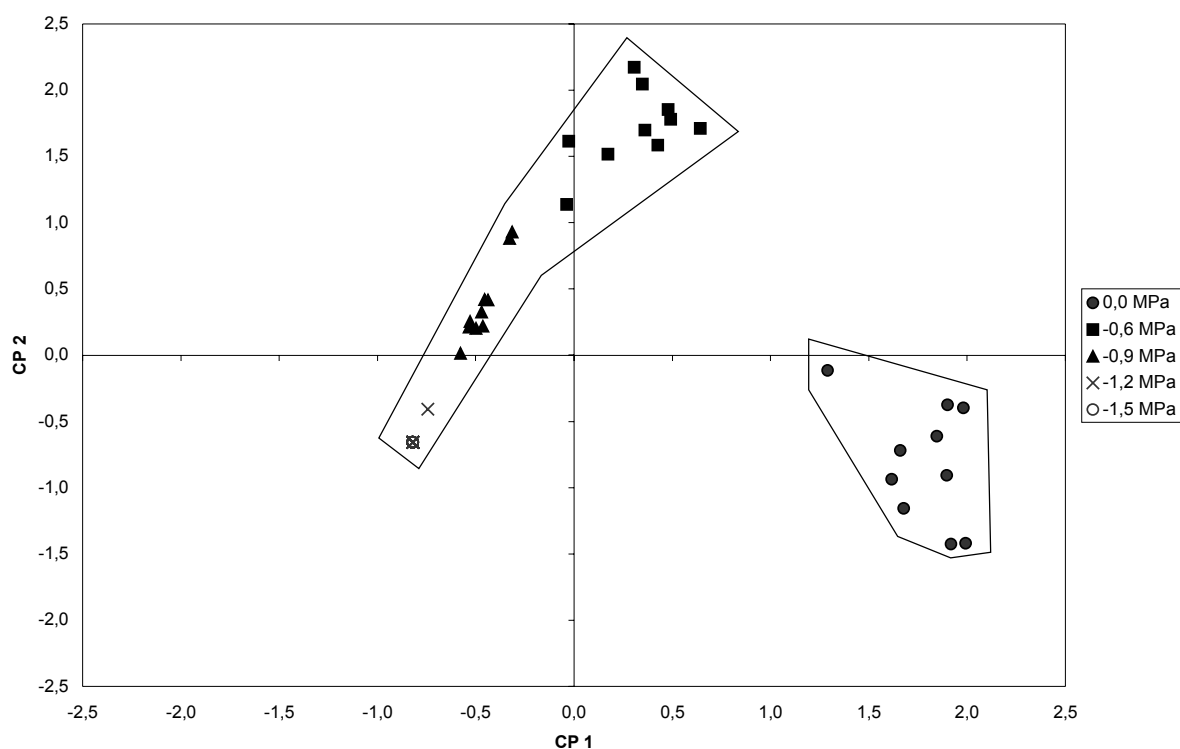


Figura 6. Distribuição dos tratamentos de disponibilidade hídrica nos dois primeiros componentes principais.

Tabela 9. Análise multivariada de componentes principais para avaliação conjunta de todas as características fisiológicas.

Dados da análise multivariada de componentes principais		
	CP 1	CP 2
Porcentagem Acumulada (%)	89,0300	97,3900
Correlação entre as características fisiológicas e os componentes principais		
Variáveis	CP 1	CP 2
Germinação no 4º dia (%)	0,9760	-0,1482
Germinação no 10º dia (%)	0,9201	0,3659
Massa Seca da Parte Aérea (mg)	0,9187	-0,3869
Massa Seca do Sistema Radical (mg)	0,9580	0,1716

CP1: Componente Principal 1

CP2: Componente Principal 2

Em relação ao primeiro componente principal (CP 1), todas as avaliações fisiológicas analisadas apresentaram alta correlação positiva (Tabela 9), separando o tratamento 0,0 MPa (H1) dos demais tratamentos permanecendo à direita no eixo CP 1 (Figura 6), indicando a influência deste tratamento sobre todas as quatro avaliações fisiológicas realizadas (Tabela 9).

Também, nota-se que o aumento do estresse hídrico provocou um deslocamento para a esquerda dos tratamentos, apresentando claramente o efeito da diminuição de água no substrato.

Conclusões

- ✓ A disponibilidade hídrica foi o estresse mais limitante para a germinação de sementes e crescimento inicial das plântulas.
- ✓ Os efeitos do alumínio associados ao estresse hídrico foram evidenciados somente até -0,9 MPa.

✓ A presença de baixas concentrações de alumínio, aproximadamente 4,0 mmol dm⁻³ incrementaram o desenvolvimento das plântulas em condições de estresse hídrico de até -0,6 MPa.

✓ Na germinação de sementes, a cultivar IAPAR 43-Aratã foi mais tolerante aos efeitos da disponibilidade hídrica e do alumínio, enquanto que a cultivar IAC Fava Larga foi mais tolerante no estabelecimento da plântula mensurada pelo crescimento da parte aérea e sistema radical.

REFERÊNCIAS

- ALVES, S. J.; MEDEIROS, G. B. Leguminosas em renovação de pastagens. In: FAVORETTO, V.; RODRIGUES, L. R. A.; RODRIGUES, T. J. D. (Ed.) **Simpósio sobre ecossistemas de pastagens**. 3. ed. Jaboticabal: FUNEP, 1997. p. 251-272.
- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 3. ed. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 247 p.
- BONATO, C. M.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA, V.; VENEGAS, H. A. Efeito do alumínio sobre a absorção, a partição e a utilização de enxofre em sorgo. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 12, n. 1, p. 17-24, 2000.
- BRADFORD, K. J. Water relations in seed germination. In: KIGEL, J.; GALILI, J. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 351-395.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Departamento Nacional de Produção Vegetal, 1992. 365 p.
- CRUZ, M. S.; PÉREZ-URRIA, E.; MARTIN, L.; AVALOS, A.; VICENTE, C. Factors affecting germination of *Canavalia brasiliensis*, *Leucena leucocephala*, *Clitoria ternatea* and *Calopogonio mucunoides* seeds. **Seed Science & Technology**, Bassersdorf, v. 23, n. 2, p. 447-454, 1995.
- CUSTÓDIO, C. C.; BOMFIM, D. C.; SATURNINO, S. M.; MACHADO NETO, N. B. Estresse por alumínio e por acidez em cultivares de soja. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 1, p. 145-153, 2002.

- DURAN, J. M.; ESTRELLA-TORTOSA, M. The effect of mechanical and chemical scarification on germination of charlock *Sinapsis arvensis* L. seeds. **Seed Science & Technology**, Bassersdorf, v. 13, p. 155-163, 1985.
- 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).
- 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.
- MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. 251 p.
- MANLY, B. F. J. **Multivariate Statistical Methods**. London: Chapman & Hall, 1994. 215 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.
- PONS, L. **Pigeonpea May Fill Seasonal Forage Gap**. ARS News Service, Agricultural Research Service, 2002. Disponível em: <<http://www.ars.usda.gov/is/pr/2002/020808.htm>>. Acesso em: 08 ago. 2002.
- 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.
- ROY, A. K.; SHARMA, A.; TALUKDER, G. Some aspects of aluminum toxicity in plants. **The Botanical Review**, New York, v. 54, n. 2, p. 145-178, 1988.
- SANTANA, D. G.; RANAL, M. A. Análise estatística na germinação. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 12, n. 4, p. 205-237, 2000.

SANTOS, D. M. M.; RODRIGUES, T. J. D. Avaliação do desempenho germinativo e crescimento inicial de plântulas do guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.). **Ecosystema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 23, p. 54-56, 1998.

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

SOUZA FILHO, A. S.; DUTRA, S. Germination of seeds of *Calopogonium mucunoides*. **Pasturas Tropicales**, Cali, v. 20, p. 26-30, 1998.

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.

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.

CAPITULO 3 - EFEITOS DA DISPONIBILIDADE HÍDRICA E DA ACIDEZ DO SOLO NO CRESCIMENTO INICIAL E NOS TEORES DE PROLINA DE GUANDU (*Cajanus cajan* (L.) MILLSP.)

RESUMO - Verificou-se no presente trabalho o efeito da disponibilidade hídrica e da acidez do solo no crescimento inicial e nos teores de prolina das cultivares de guandu, IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga. Quatro dias após o plantio em areia, sem restrição hídrica, as plantas foram transplantadas para os vasos com os tratamentos de acidez do solo (pH em CaCl_2 = 5,9; 5,3; 4,8 e 4,1), e posteriormente foram adicionados, volumes conhecidos de água para obtenção dos tratamentos de 60%, 40% e 20% de disponibilidade hídrica. O experimento foi conduzido em sala de crescimento com irradiância média de $89,50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fotoperíodo controlado de 8 horas de luz, e temperatura média de 29°C. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2x3x4 (cultivar x disponibilidade hídrica x acidez), com quatro repetições. Para a complementação da análise estatística, foram realizadas análises multivariadas de agrupamento e de componentes principais. Pelos resultados obtidos, a cultivar IAPAR-43 Aratã apresentou um menor desenvolvimento da parte aérea e do sistema radical tanto em condições de restrição hídrica quanto de acidez do solo, comparada com a IAC Fava Larga. Em condições de restrição hídrica severa, a cultivar IAC Fava Larga pode ser considerada mais tolerante devido ao maior acúmulo de prolina livre. A presença de alumínio no solo associada à restrição hídrica severa apresentou um efeito sinérgico sobre os teores de prolina livre. Também, foram realizadas avaliações morfo-anatômicas das raízes, as quais não apresentaram respostas que constatassem a tolerância para o alumínio entre as cultivares.

Palavras chave: Alumínio, Estresse hídrico, Forrageira, Leguminosa, Prolina

Introdução

A espécie, *Cajanus cajan* (L.) Millsp., conhecida pelo nome de guandu, é considerada uma importante leguminosa dos trópicos semi-áridos, e está aclimatada em diversos países tropicais (ALCÂNTARA e BUFARAH, 1988).

Dentre as leguminosas de grãos, mundialmente o guandu ocupa o 6º lugar em importância alimentar (RAO et al., 2002). Esta leguminosa arbustiva aclimatou-se perfeitamente em nosso país, tendo sido introduzida, principalmente, devido à habilidade de ser resistente à seca e de crescer em solos pobres, apresentando bons resultados como fornecedora de massa verde nos pastos em períodos de chuvas escassas, além de ser muito adequada para a rotação de culturas (ALVES e MEDEIROS, 1997). No Brasil o guandu é, principalmente cultivado na região Nordeste, onde ocupa as áreas marginais (VIEIRA e SALGADO, 1992)

Como os fatores do ambiente interferem na produtividade vegetal, é essencial a avaliação dos efeitos desses fatores no crescimento e desenvolvimento das espécies que possam assumir importância econômica (PEREZ, 1995).

Entre os vários fatores ambientais, a deficiência hídrica e a acidez do solo, provocam severos danos no desenvolvimento das plantas. A deficiência hídrica influencia diversos aspectos do desenvolvimento da planta, e a sensibilidade diferencial de uma planta nos diversos estádios de desenvolvimento pode reduzir, acentuadamente, o crescimento vegetal (SANDERSON et al., 1997). Também, em decorrência da acidez dos solos, a toxicidade provocada pelo alumínio pode limitar intensamente a produtividade agrícola em grandes áreas, especialmente nos trópicos e subtropicais, onde os solos são caracteristicamente ácidos (KOCHIAN, 1995).

As plantas sob estresse hídrico, apresentam alterações nos processos fisiológicos que estão também associados com a produtividade das pastagens, tais como movimento estomático, fotossíntese, respiração, translocação e partição de fotoassimilados (TURNER e BEGG, 1978), pois a estratégia de sobrevivência, das plantas, em habitats caracterizados como estressantes, não é a maximização da

produtividade, mas certamente uma composição equilibrada entre o rendimento e a sobrevivência (LARCHER, 2000). Contudo, a intensidade dos efeitos prejudiciais na planta dependerá da duração e da severidade do estresse hídrico, do estágio de desenvolvimento e do genótipo utilizado (TAIZ e ZEIGER, 2002).

A maioria das terras cultivadas, aproximadamente 78,4%, é composta de solos ácidos que impossibilitam a exploração economicamente viável das culturas, uma vez que os processos de formação do solo que originam a sua acidez, freqüentemente, ocasionam também o esgotamento de alguns elementos essenciais para as plantas (HAMEL et al., 1998). Somente no Brasil, os solos do cerrado, com baixa capacidade de troca de íons e alta toxicidade de alumínio representam 205 milhões de hectares (FUENTE-MARTINÉZ e HERRERA-ESTRELLA, 1999).

A acidez do solo é um importante fator que determina a nutrição e distribuição do vegetal, visto que muitos processos bioquímicos ocorrem somente em uma estreita faixa de valores de pH, principalmente entre 6,0 e 7,0 (LARCHER, 2000). O pH influencia a solubilidade, a concentração em solução e a forma iônica dos nutrientes no solo, e conseqüentemente, a absorção e utilização pela planta, sendo, portanto, uma das propriedades químicas do solo mais importantes para a determinação da produção agrícola (FAGERIA et al., 1997).

Os efeitos da toxicidade do alumínio na cultura do guandu, são notados tanto na parte aérea como no sistema radical, todavia, tais efeitos são mais proeminentes nas raízes, resultando em um desenvolvimento pouco vigoroso, com engrossamento e coloração dos tecidos anormais (NARAYANAN e SYAMALA, 1989).

Para capacitar as plantas à tolerar o estresse hídrico um dos mecanismos fisiológicos mais importantes é o ajustamento osmótico (Begg e Turner, 1976, citados por BURLE e RODRIGUES, 1990). Durante o período de deficiência hídrica as plantas, ativamente acumulam solutos no citosol para diminuir o potencial osmótico e conseqüentemente manter o potencial hídrico e o turgor de suas células em limites adequados (BRAY, 1997). Os compostos envolvidos no ajustamento osmótico são os açúcares solúveis, o potássio, os ácidos orgânicos, o cloreto e, principalmente, os aminoácidos livres, como a prolina (INGRAN e BARTELS, 1996).

Existe uma alta correlação entre o acúmulo de prolina e o aumento da tolerância ao estresse hídrico, todavia atribui-se a este acúmulo uma simples resposta ao efeito de um estresse abiótico (MADAN et al., 1995). O acúmulo de prolina não está associado somente às plantas que se desenvolvem sob condições de estresses hídrico, esta resposta também pode ser verificada em plantas sob condições de toxicidade do alumínio decorrentes da elevada acidez do solo, portanto os mecanismos fisiológicos envolvidos nesta resposta possivelmente devem ser similares (ZAIFNEJAD et al., 1997).

Assim, o presente trabalho teve por objetivo estudar o efeito simultâneo da disponibilidade hídrica e da acidez do solo no crescimento e nos teores de prolina de guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.), cultivares IAPAR 43-Aratã e IAC Fava larga. Para tanto, foi avaliado o crescimento inicial da parte aérea e do sistema radical, quantificados os teores de prolina da parte aérea, e foi observada a tolerância diferencial ao alumínio através do estudo da estrutura morfo-anatômica das raízes.

Material e Métodos

Para verificar a influência da disponibilidade hídrica e da acidez do solo no crescimento inicial das cultivares IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, o experimento foi instalado e conduzido na sala de crescimento do laboratório de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária da FCAV, Unesp. Inicialmente foram utilizadas oito bandejas de plástico, contendo areia, nas quais foram realizada a semeadura, sendo quatro para cada cultivar. As sementes foram tratadas com Vitavax-Thiram 200 SC na dosagem de 3 mL kg⁻¹ de semente para assegurar uma boa sanidade das plântulas utilizadas no transplântio, as quais foram obtidas após o 4º dia de germinação sem restrição hídrica.

Os diferentes tratamentos de disponibilidade hídrica e acidez do solo, foram realizados iniciando pela metodologia para acidez do solo, como descrito a seguir.

1. Tratamentos de acidez do solo

O solo utilizado é classificado como Latossolo Vermelho-Escuro distrófico (ANDRIOLI e CENTURION, 1999), e foi coletado na profundidade de 20 - 40 cm, no Campus da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Unesp – Jaboticabal (21°15'Sul e 48°18'Oeste). Primeiramente, foi realizada a análise química e granulométrica do solo no laboratório de Fertilidade de Solos da FCAV (Tabela 1).

Tabela 1. Análise química e granulométrica do solo.

Análise Química									
pH CaCl ₂	M.O.	P resina	K	Ca	Mg	H+Al	SB	T	V
	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	mmol _c dm ⁻³						%
4,1	11	3	1,3	3	2	42	6,3	43,8	13
Análise Granulométrica									
Argila	Limo	Areia		Classe Textural					
		Fina	Grossa						
g/kg									
360	80	340	220	Argilosa					

M.O.: Matéria Orgânica;
 SB: Soma de Bases;
 T: Capacidade de Troca de Cátions;
 V: Saturação por Bases

A interpretação da análise química do solo evidenciou acidez muito alta, teor de fósforo muito baixo, teores baixos de potássio, cálcio e magnésio. Também, a saturação por bases apresentou valor muito baixo evidenciando um solo caracteristicamente de baixa fertilidade conforme as Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo (van RAIJ et al., 1997). Visando obter os três tratamentos de acidez do solo, baixa (A1), média (A2) e alta (A3) utilizou-se com base a elevação da saturação por bases (V%) através do cálculo para necessidade de calagem, pois os parâmetros

relacionados a acidez do solo, pH CaCl_2 , e saturação por bases possuem estreita correlação entre si (van RAIJ et al., 1997). As quantidades de carbonato de cálcio (CaCO_3) necessárias para a obtenção aproximada das saturações por bases de 75% (baixa acidez), 55% (média acidez) e 35% (alta acidez), determinadas pelo cálculo da necessidade de calagem para cada unidade experimental de 1630 cm^3 de solo foram as seguintes, 2,44 g para elevar a saturação por bases a 75%, 1,65 g para elevar a saturação por bases a 55% e 0,87 g para elevar a saturação por bases a 35%. Cada tratamento foi individualmente acondicionado em saco plástico para a homogeneização do carbonato de cálcio com o solo, e em seguida foram adicionados 855 mL de água para umedecer o solo até a capacidade de campo (vide p. 7), e durante o período de 15 dias de incubação os sacos plásticos permaneceram em repouso, fechados e em temperatura ambiente (COSTA e BRAGA, 1984). Para o conhecimento dos níveis de acidez atingidos após esse período, foi retirada uma amostra de cada tratamento A1, A2 e A3 as quais foram submetidas à análise química (Tabela 2).

Tabela 2. Análise química do solo, após 15 dias de incubação com carbonato de cálcio.

Análise Química												
Tratamentos	pH	M.O	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	T	V	m
	CaCl ₂		resina									
	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	mmol _c dm ⁻³									
A1	5,9	14	6	1,9	35	14	0	20	50,9	70,9	72	0
A2	5,3	14	4	1,9	22	9	0	25	32,9	57,9	57	0
A3	4,8	14	4	2,0	12	5	2	28	19,0	47,0	40	9
A4	4,1	11	3	1,3	3	2	9	42	6,3	43,8	13	58

M.O.: Matéria Orgânica;
 SB: Soma de Bases;
 T: Capacidade de Troca de Cátions;
 V: Saturação por Bases;
 m: Saturação de Alumínio

Diante dos dados obtidos na análise química do solo, e baseando-se no Boletim Técnico número 100 (van RAIJ et al., 1997), considerou-se os seguintes tratamentos de

acidez no solo, acidez baixa, pH em $\text{CaCl}_2 = 5,9$ (A1); acidez média, pH em $\text{CaCl}_2 = 5,3$ (A2); acidez alta pH em $\text{CaCl}_2 = 4,8$ (A3) além do controle, sendo um tratamento sem adição de carbonato de cálcio considerado de acidez muito alta pH em $\text{CaCl}_2 = 4,1$ (A4).

Após a obtenção dos tratamentos de acidez do solo, pode-se proceder a realização da metodologia para obter os tratamentos de disponibilidade hídrica.

2. Tratamentos de disponibilidade hídrica

Para o estudo da disponibilidade hídrica nos solos descritos acima, foram considerados três tratamentos: 60% (H1), 40% (H2) e 20% (H3) dos poros preenchidos com água. Os solos dos tratamentos A1, A2, A3 e A4 foram secos em uma estufa de circulação forçada de ar a temperatura de 65°C até o equilíbrio da umidade do mesmo com o ar. Para determinar os tratamentos de disponibilidade hídrica (H1, H2 e H3) dos solos, os cálculos foram fundamentados na densidade de massa e porosidade (KLAR et al., 1966):

(a) Densidade de massa:

$$\delta_b = \frac{M_s}{V}$$

$$\delta_b = 2055/1630 = 1,26 \text{ g cm}^{-3}$$

onde: δ_b é igual à densidade de massa;

M_s é igual à massa do solo seco;

V é igual ao volume de solo.

(b) Porosidade:

$$f = 1 - \frac{\delta_b}{\delta_s}$$

$$f = 1 - (\delta_b / \delta_s) = 1 - (1,26 / 2,65) = 0,5245 = 52,45\%$$

onde: f é igual a porosidade;

δ_b é igual a densidade da massa (calculada);

δ_s é igual a densidade de partícula (tabelada).

Também, considerou-se a capacidade de campo, onde o volume ocupado por poros em 1630 cm^3 corresponde a 855 cm^3 (aproximadamente 52,45%), sendo então este o volume de água necessário para atingir a capacidade de campo. Desse modo, considerando-se os valores obtidos com estas fórmulas foi definida a quantidade de água para os três tratamentos:

H1 = 510 cm^3 (sem restrição hídrica, 60% dos poros preenchidos com água);

H2 = 340 cm^3 (restrição hídrica moderada, 40% dos poros preenchidos com água);

H3 = 170 cm^3 (restrição hídrica severa, 20% dos poros preenchidos com água).

Após os quatro dias de desenvolvimento das plantas sem restrição hídrica (vide p. 4), o experimento foi instalado e conduzido em sala de crescimento com irradiância média de $89,50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ com fotoperíodo controlado de oito horas de luz, e temperatura média de 29°C .

Foram utilizados vasos, com capacidade para 1630 cm^3 de solo, revestidos com sacos plásticos, para impedir a perda de água por escoamento. Primeiramente, foi realizado o transplântio de duas plântulas por vaso e em seguida o solo foi umedecido com as respectivas quantidades de água para cada tratamento. Após a emissão do primeiro par de folhas simples, foi realizado o desbaste eliminando a planta menos vigorosa. O controle da disponibilidade hídrica foi realizado conforme o método das pesagens (COGO e GUERRA, 1978), repondo diariamente a quantidade de água evapotranspirada. Os tratamentos foram mantidos por 20 dias e após este período o experimento foi finalizado procedendo-se à avaliação dos parâmetros fisiológicos do crescimento inicial (parte aérea, teores de prolina livre e sistema radical).

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), três tratamentos de disponibilidade hídrica (H1, H2 e H3) e quatro tratamentos de acidez (A1, A2, A3 e A4). As duas cultivares combinadas com os três tratamentos de disponibilidade hídrica e os quatro tratamentos acidez, constituíram-se 24 tratamentos com quatro repetições.

3. Avaliações Fisiológicas

Crescimento inicial

Parte aérea

Após 20 dias do transplântio, as plantas de guandu foram cortadas na altura do colo, avaliando-se em seguida a altura (cm), o número de folhas simples e compostas, massa fresca de folhas e de caules (g) e área foliar (dm^2) a qual foi determinada através do sistema de análise de imagens Delta-T Devices LTD pelo software Delta-T Image Analysis System. Para determinação da massa fresca da parte aérea utilizou-se uma balança analítica Denver Instrument Company AA-200, com precisão de 0,0001 g. Após todas as medições da parte aérea de cada planta, o material vegetal foi separado em alíquotas de até 0,5 g e acondicionados em envelopes de papel alumínio que foram identificados e armazenados sob refrigeração com temperatura de 80°C negativos, para as posteriores avaliações dos teores de prolina livre.

Teores de prolina livre

Os teores de prolina livre da parte aérea 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 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 livre foram calculados com base na massa fresca conforme a fórmula abaixo:

$$[(\mu\text{g prolina/mL} \times \text{mL tolueno})/115,5 \mu\text{g}/\mu\text{mole}] / [(\text{g amostra})/5] = \mu\text{moles de prolina/g massa fresca.}$$

Sistema radical

Após o corte da parte aérea, o conteúdo de cada vaso foi colocado sobre uma peneira, malha 16, onde o sistema radical foi separado do solo, por meio de lavagem com direcionamento de corrente fraca de água, proporcionando a separação das raízes, as quais foram conservadas sob refrigeração em frascos contendo solução de álcool 20%, para as posteriores determinações de massa seca das raízes (mg), densidade (mm de raiz cm^{-3} de solo) e diâmetro médio (mm).

Para a determinação da densidade e diâmetro médio das raízes, utilizou-se sistema de análise de imagens da Delta-T Devices LTD. Para tanto o sistema radical 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 através de um scanner Hewlett Packard modelo 5C. A imagem de cada sistema radical foi analisada pelo software Delta-T Scan e o comprimento foi mensurado pelo método de HARRIS e CAMPBELL (1989). A densidade das raízes foi calculada dividindo-se o comprimento encontrado pelo volume do solo (mm de raiz cm^{-3} de solo). Esse software também permite que através da mesma imagem seja determinado o diâmetro médio das raízes (mm).

Após a mensuração do comprimento e do diâmetro médio, as raízes foram colocadas em saco de papel e levadas à secar em estufa de circulação forçada de ar à 80°C. Para determinação da massa seca, para tanto utilizou-se uma balança analítica, Denver Instrument Company AA-200, com precisão de 0,0001 g.

Avaliações morfo-anatômicas

Para verificar as alterações histológicas provocadas pelo alumínio no sistema radical, porções de aproximadamente 5 mm do ápice da raiz principal foram coletadas e armazenadas em frascos de vidro contendo solução de FAA (Formalina-aceto-álcool: 90 mL de etanol 50%, 5 mL de ácido acético glacial e 5 mL de formaldeído a 37%). Para o preparo das lâminas permanentes, as amostras foram desidratadas utilizando-se a série alcoólica com álcool butílico terciário. As pequenas porções apicais da raiz principal foram incluídas em blocos de parafina, seccionadas transversalmente em micrótomo rotativo LEICA RM 2065, e aderidas as lâminas histológicas com adesivo de Meyer. As secções foram contrastadas com safranina, e para a montagem final da lâmina foi utilizado balsamo do Canadá como adesivo para a lamínula (MÔRO, 2000). O material foi observado e fotografado em fotomicroscópio JENAVAL Carl Zeiss.

4. Tratamento estatístico

Para a análise dos resultados obtidos foi empregado primeiramente o tratamento estatístico das características individuais através da análise de variância pelo teste F e o teste de Tukey para a comparação entre médias. Este teste também foi utilizado para comparação entre as médias das interações significativas das cultivares e disponibilidade hídrica ou das cultivares e acidez do solo. A análise da regressão polinomial foi utilizada para o desdobramento dos graus de liberdade dos tratamentos de disponibilidade hídrica e acidez do solo (BANZATTO e KRONKA, 1995). Após a realização do tratamento estatístico, acima descrito, também foram realizadas análises multivariadas de agrupamento e de componentes principais objetivando uma avaliação em conjunto de todas as avaliações fisiológicas (variáveis). Considerou-se como variáveis a altura (cm), número de folhas simples e compostas, área foliar (dm²), massa fresca de folhas e de caule (g), massa seca do sistema radical (mg), densidade de raízes (mm de raiz cm⁻³ de solo) e diâmetro médio de raízes (mm).

A análise de agrupamento engloba uma variedade de técnicas e algoritmos cujo objetivo é encontrar e separar objetos em grupos similares (SNEATH e SOKAL, 1973). Para verificar a medida de similaridade entre os tratamentos utilizados, foi adotada a Distância Euclidiana, e para a estratégia de agrupamento foi utilizado o método 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).

Resultados e Discussão

Avaliações Fisiológicas

Crescimento inicial e teores de prolina da parte aérea

A análise de variância das avaliações fisiológicas da parte aérea (Tabela 3), evidencia que, para a variável cultivares (C), houve diferenças significativas. O teste de Tukey, revelou que o crescimento da cultivar IAC Fava Larga foi maior que o da IAPAR 43-Aratã, considerando-se os resultados da massa fresca de folhas, de caules e da área foliar (Tabela 3).

Para a interação das cultivares em cada disponibilidade hídrica (C x H), verificou-se pelo teste de Tukey (Tabela 4) que as plantas da cultivar IAC Fava Larga apresentaram-se com menor altura no tratamento de 20%, com restrição hídrica severa, enquanto que a cultivar IAPAR 43-Aratã apresentou plantas com menor altura e menor número de folhas no tratamento de 60%, sem restrição hídrica, indicando que condições de deficiência de água não provocam efeito negativo na altura das plantas desta cultivar. Salienta-se que, a altura é um indicador potencial do vigor da planta, e

Tabela 3. Análise de variância e teste de Tukey das avaliações fisiológicas da parte aérea (altura, número de folhas simples e compostas, massa fresca de folhas, massa fresca de caules, área foliar e teores de prolina livre) de guandu, IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, sob condições simultâneas de disponibilidade hídrica e de alumínio, 20 dias após o transplântio.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios					
		Altura	Número de Folhas ¹	Massa Fresca de Folhas	Massa Fresca de Caules	Área Foliar	Teores de Prolina Livre
		(cm)		(g)	(g)	(dm ²)	µmoles g ⁻¹ MF ²
Cultivares (C)	1	0,0651 ^{ns}	0,0421 ^{ns}	0,2015**	0,0158**	0,1494**	2,9685**
Disponibilidade Hídrica (H)	2	170,5989**	0,2688**	0,2178**	0,0426**	0,3248**	3,4286**
Alumínio (A)	3	15,7073*	0,0924**	0,0147*	0,0023 ^{ns}	0,0583**	0,9122**
Interação (CxH)	2	43,6451**	0,0868**	0,0773**	0,0037 ^{ns}	0,0944**	0,7736**
Interação (CxA)	3	6,3826 ^{ns}	0,0223 ^{ns}	0,0196**	0,0019 ^{ns}	0,0231*	0,0543 ^{ns}
Interação (HxA)	6	3,1961 ^{ns}	0,0345 ^{ns}	0,0026 ^{ns}	0,0011 ^{ns}	0,0028 ^{ns}	0,4983**
Interação (CxHxA)	6	9,6218 ^{ns}	0,0556**	0,0065 ^{ns}	0,0014 ^{ns}	0,0090 ^{ns}	0,1014 ^{ns}
Resíduo	72	4,3618	0,0168	0,0042	0,0014	0,0070	0,1335
C.V.(%)		11,1865	5,9827	23,7110	23,0263	25,0649	33,5367
Médias e teste de Tukey³							
IAPAR 43-Aratã		18,6438 A	2,1469 A	0,2267 B	0,1479 B	0,2942 B	0,9135 B
IAC Fava Larga		18,6958 A	2,1888 A	0,3184 A	0,1736 A	0,3731 A	1,2652 A

^{ns}: não significativo (P > 0,05);

* : significativo (P < 0,05);

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

¹Dados de Número de Folhas Simples e Compostas transformados em $\sqrt{x/100}$

² : MF = Massa Fresca da parte aérea

³ Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (P > 0,05).

Tabela 4. Teste de Tukey dos efeitos da disponibilidade hídrica (C x H), na altura, número de folhas simples e compostas, massa fresca de folhas, área foliar e teores de prolina livre de guandu, IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, 20 dias após o transplante.

Cultivares	Médias e teste de Tukey ¹		
	Disponibilidade Hídrica (%)		
	60	40	20
Altura (cm)			
IAPAR 43-Aratã	19,7375B	18,7750A	17,4188A
IAC Fava Larga	21,4500A	19,8375A	14,8000B
Número de Folhas ²			
IAPAR 43-Aratã	2,1771B	2,1623A	2,1013A
IAC Fava Larga	2,3161A	2,2171A	2,0332A
Massa Fresca de Folhas (g)			
IAPAR 43-Aratã	0,2562B	0,2338B	0,1902A
IAC Fava Larga	0,4218A	0,3631A	0,1702A
Área Foliar (dm ²)			
IAPAR 43-Aratã	0,3371B	0,4261B	0,2438A
IAC Fava Larga	0,4945A	0,3017A	0,1987A
Teores de Prolina Livre ($\mu\text{moles g}^{-1}$ de MF ³)			
IAPAR 43-Aratã	0,7905A	0,8387A	1,1115B
IAC Fava Larga	0,9735A	1,0002A	1,8220A

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

² Dados de Número de Folhas Simples e Compostas transformados em $\sqrt{x/100}$;

³ : MF = Massa Fresca da parte aérea

este parâmetro é muito sensível ao estresse hídrico devido à menor turgescência celular, a qual diminui a expansão celular e, conseqüentemente, o alongamento caulinar (KRAMER, 1969). Os efeitos de diferentes regimes hídricos (0, 25, 50, 75 ou 100% da capacidade de campo), 30 dias após a semeadura mostraram que, a altura do guandu diminuiu acentuadamente com o aumento da deficiência hídrica (RAGHUWANSHI et al., 1998). Por outro lado, o guandu é muito sensível às condições de excesso de água

(NENE, 1990), e assim, a redução, tanto na altura quanto no número de folhas, verificadas na cultivar IAPAR 43-Aratã, no tratamento de 60% (Tabela 4) deve-se, possivelmente, a elevada sensibilidade desta cultivar à este tratamento, que para o seu crescimento constitui-se uma condição de excesso de água.

Para massa fresca de folhas e área foliar os resultados foram similares para ambas cultivares, pois a cultivar IAPAR 43-Aratã apresentou um decréscimo significativo nas disponibilidades hídricas de 60% e 40%, não se constatando diferença estatística entre as cultivares no estresse mais severo de 20% (Tabela 4).

Isto corrobora com os resultados encontrados para, a cultivar de guandu Royes, em que ocorreu acentuada redução da área foliar (38% a 51%) sob deficiência hídrica no solo (MUCHOW, 1982; WILSON e MUCHOW, 1983). O primeiro efeito da falta de água no solo é o decréscimo no alongamento celular, devido a diminuição da turgescência celular, que resulta na redução do desenvolvimento da área foliar (LUDLOW et al., 1980). Embora a redução na expansão foliar e no crescimento da planta, seja sempre atribuída a redução na expansão celular (CHARTZOULAKIS et al., 1993), ressalta-se que o crescimento é decorrente do alongamento irreversível das células através do influxo de água. Entretanto, 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).

Para a variável cultivares (C), verificou-se pelo teste de Tukey que, os teores de prolina livre da parte aérea da cultivar IAC Fava Larga foi maior que o da IAPAR 43-Aratã (Tabela 3), e houve resposta significativa apenas para o tratamento de 20% de disponibilidade hídrica, sendo que nesta condição de estresse severo observou-se um maior acúmulo de prolina livre nesta cultivar (Tabela 4). Este resultado indica que, apesar desta cultivar somente evidenciar menor crescimento na altura das plantas (Tabela 4), o estresse hídrico já estava estabelecido internamente na planta sendo indicado pela maior quantidade de prolina. Estes resultados são compatíveis com os encontrados na literatura, pois em estudos com plantas, sob as mesmas condições de

deficiência hídrica, as plantas resistentes à seca sintetizam mais prolina em comparação com as mais sensíveis (PALFI e JUHASZ, 1971). O acúmulo de prolina tem sido proposto como um critério no melhoramento para tolerância à seca e também como um parâmetro para mensurar na cultura o grau de estresse hídrico (KARAMANOS et al., 1983).

Em muitas espécies cultivadas, o acúmulo de prolina livre nas folhas é diretamente proporcional ao estresse hídrico (Wyn Jones & Gorham, 1983, citados por NOGUEIRA et al., 1998). 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).

De fato, o aumento dos teores de prolina livre nas plantas de guandu sob déficit hídrico poderia ser atribuído ao aumento das atividades das enzimas envolvidas na síntese deste aminoácido (KARDPAL e RAO, 1985), ou à inibição da oxidação da prolina (KIYOSUE et al., 1996). De um modo geral, as plantas quando expostas aos diversos tipos de estresse ambiental, notadamente o estresse hídrico, podem apresentar acúmulo de prolina, e este acúmulo tem sido associado com a tolerância das plantas à essa condição adversa, podendo representar um mecanismo regulador da perda de água, mediante aumento da osmolaridade celular (FUMIS e PEDRAS, 2002). Geralmente a síntese de proteínas, sob a influência do estresse, é inibida e a degradação de proteínas é acelerada, conduzindo a um acúmulo de aminoácidos e aminas livres. As alterações no metabolismo das proteínas, têm como uma das

características marcantes a mudança nas proporções dos aminoácidos e, freqüentemente, um aumento elevado na concentração de prolina (LARCHER, 2000).

Para a interação das cultivares em cada tratamento de acidez do solo (C x A), o teste de Tukey para massa fresca de folhas e área foliar (Tabela 5) revelou que, a partir do pH em CaCl_2 igual a 5,3, a cultivar IAPAR 43-Aratã apresentou uma significativa redução da massa fresca de folhas. Este resultado também foi verificado em experimentos com a cultivar IAPAR 43-Aratã cultivada em solução nutritiva de Clark com concentrações crescente de alumínio (COSSOLINI, 2000). Entretanto para a área foliar (Tabela 5) apenas o pH de 5,3 causou acentuada redução, podendo ser considerado um dado aleatório, pois tanto em condições de alta acidez (pH = 4,1) ou baixa acidez (pH = 5,9), não houve resposta de redução da área foliar. Também em seis cultivares de girassol verificou-se uma redução de 33% na área foliar em função da toxicidade provocada pelo alumínio (KRIZEK et al., 1988).

O alumínio na solução do solo, de um modo geral, não apresenta toxicidade para valores menores que $5 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ mas entre $5\text{-}10 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ e acima de $10 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ é alta a probabilidade de ocorrer toxicidade, mesmo considerando que as espécies e/ou cultivares tenham diferentes graus de tolerância ao alumínio (MALAVOLTA, 1980).

Nota-se que, para a cultivar IAPAR 43-Aratã, mesmo não se observando a presença de alumínio no pH de 5,3 (Tabela 2, item Material e Métodos), a partir desta condição de acidez o estabelecimento desta cultivar é prejudicado. Esta resposta pode ser atribuída a outros fatores, isentando o alumínio dos reais efeitos deletérios na parte aérea. Em soja, as concentrações acima de $1,0 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ de alumínio, são suficientes para provocar diminuição no desenvolvimento das plântulas (CUSTÓDIO, 2002).

Os desdobramentos dos graus de liberdade dos fatores quantitativos em regressão polinomial, da disponibilidade hídrica e acidez do solo (H x A, Tabela 3) para os teores de prolina livre de ambas cultivares (Tabela 6), revelam efeitos significativos no pH de 4,8 ($1,7702^{**}$) e 4,1 ($1,7059^{**}$), mostrando que nas disponibilidades hídricas dentro destes tratamentos (Figura 1, A3 e A4, respectivamente) houve um aumento nos teores de prolina proporcionalmente a diminuição quantidade de água (Figura 1A).

Os efeitos da acidez do solo, de um modo geral, somente foram significativos na

Tabela 5. Teste de Tukey dos efeitos da acidez do solo (C x A), na massa fresca de folhas e área foliar de guandu, IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, 20 dias após o transplante.

Cultivares	Médias e teste de Tukey ¹			
	pH em CaCl ₂			
	5,9	5,3	4,8	4,1
Massa Fresca de Folhas (g)				
IAPAR 43-Aratã	0,2592A	0,2334B	0,2039B	0,2105B
IAC Fava Larga	0,2747A	0,3843A	0,3170A	0,2976A
Área Foliar (dm ²)				
IAPAR 43-Aratã	0,3395A	0,3049B	0,2924A	0,2401A
IAC Fava Larga	0,3648A	0,4733A	0,3488A	0,3055A

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

disponibilidade hídrica de 20% (Tabela 6; 1,9573**), revelando uma tendência linear positiva dos teores de prolina em resposta ao aumento da acidez do solo (Figura 1B). De fato, o aumento no conteúdo de prolina livre sob efeito do alumínio, em *Cicer arietinum* (L.), pode ser um indicador do estresse causado por este íon (SATAKOPAN, et al., 1992). Também, em *Vigna radiata* (L.) Wilczek, cv. Minglu, foi observado um significativo aumento dos teores de prolina em condições de até 2 mM de alumínio na solução nutritiva (YANG e CHEN, 2001).

Apesar de varias pesquisas relacionarem a função protetora da prolina na adaptação das células ao estresse hídrico, ainda existem dúvidas se o acúmulo desse composto nos tecidos das plantas proporciona realmente uma vantagem adaptativa, ou simplesmente é uma consequência ocasional de outros estresses, que induzem mudanças no metabolismo (HARE e CRESS, 1997).

Crescimento inicial do sistema radical

A análise de variância das avaliações fisiológicas do sistema radical (Tabela 7), evidencia que para a variável cultivares (C), verificou-se pelo teste de Tukey, de um

Tabela 6. Regressão polinomial dos teores de prolina da parte aérea de guandu, IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, sob condições simultâneas de disponibilidade hídrica e de acidez no solo (HxA), 20 dias após o transplante.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios
		Teores de Prolina Livre ($\mu\text{moles g}^{-1} \text{MF}^1$)
R.L. para H. d. A1	1	0,3064 ^{ns}
R.Q. para H. d. A1	1	0,0713 ^{ns}
R.L. para H. d. A2	1	0,2125 ^{ns}
R.Q. para H. d. A2	1	0,0668 ^{ns}
R.L. para H. d. A3	1	1,7702 ^{**}
R.Q. para H. d. A3	1	0,2736 ^{ns}
R.L. para H. d. A4	1	5,4417 ^{**}
R.Q. para H. d. A4	1	1,7059 ^{**}
R.L. para A. d. H1	1	0,0262 ^{ns}
R.Q. para A. d. H1	1	0,0504 ^{ns}
R.C. para A. d. H1	1	0,0083 ^{ns}
R.L. para A. d. H2	1	0,0354 ^{ns}
R.Q. para A. d. H2	1	0,0077 ^{ns}
R.C. para A. d. H2	1	0,0734 ^{ns}
R.L. para A. d. H3	1	1,9573 ^{**}
R.Q. para A. d. H3	1	0,0312 ^{ns}
R.C. para A. d. H3	1	0,4567 ^{ns}
Resíduo	72	0,1335

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

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

R.L.: regressão linear;

R.Q.: regressão quadrática;

R.C.: regressão cúbica

¹: MF = Massa Fresca da parte aérea

A1: pH = 5,9

A2: pH = 5,3

A3: pH = 4,8

A4: pH = 4,1

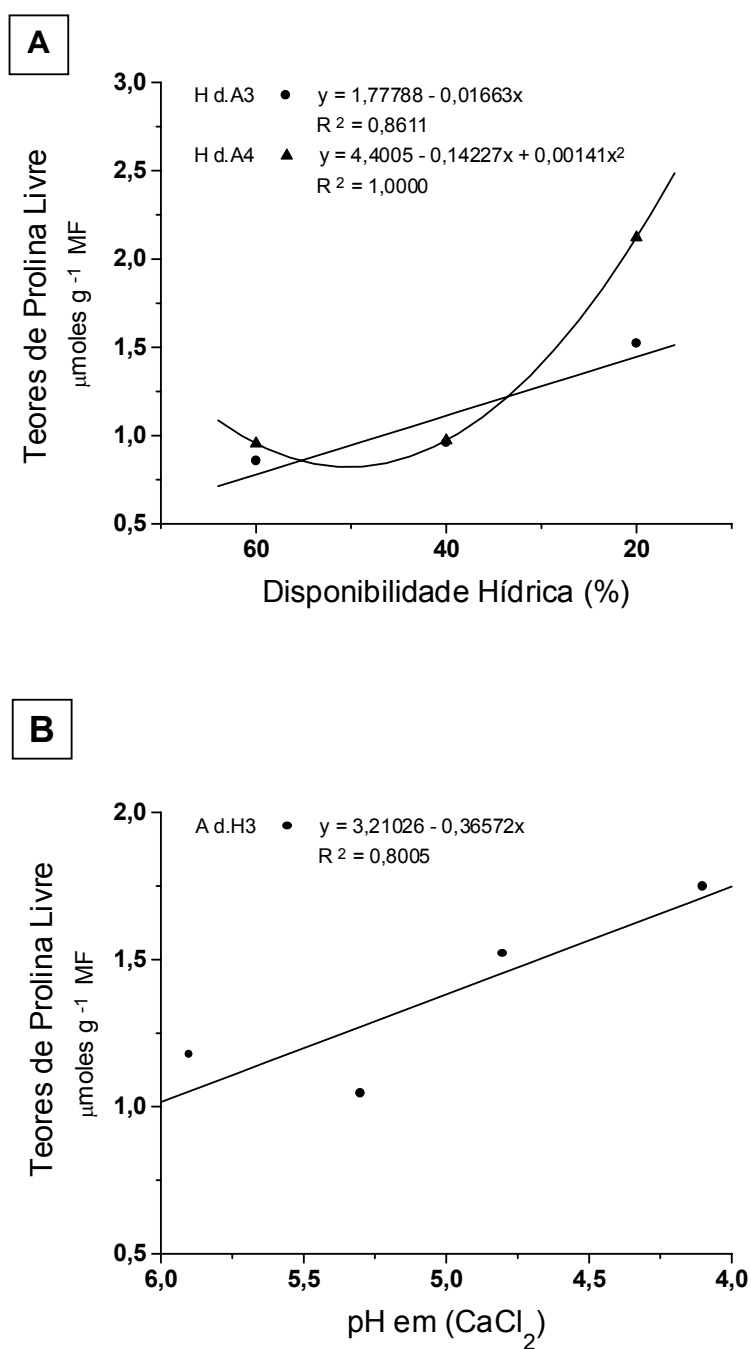


Figura 1. Teores de prolina livre da massa fresca da parte aérea de guandu, IAPAR 43 Aratã e IAC Fava Larga, sob efeito da disponibilidade hídrica e da acidez do solo, 20 dias após o transplântio. **A.** Disponibilidade hídrica dentro da acidez do solo com pH = 4,8 e pH = 4,1. **B.** Acidez do solo dentro da disponibilidade hídrica de 20%.

Tabela 7. Análise de variância e teste de Tukey das avaliações do sistema radical (massa seca das raízes, densidade das raízes e diâmetro médio das raízes) de guandu, IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, sob condições simultâneas de disponibilidade hídrica e de alumínio, 20 dias após o transplântio.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios		
		Massa seca das raízes	Densidade das raízes	Diâmetro médio das raízes
		(mg)	(mm raiz cm ⁻³ solo)	(mm)
Cultivares (C)	1	420,4251**	1,3617**	0,0326**
Disponibilidade Hídrica (H)	2	21,0564**	0,0670 ^{ns}	0,0087**
Alumínio (A)	3	11,8737 ^{ns}	2,0539**	0,0077**
Interação (CxH)	2	6,2851 ^{ns}	0,4807*	0,0045*
Interação (CxA)	3	20,3601**	0,5244*	0,0045*
Interação (HxA)	6	3,5966 ^{ns}	0,2171 ^{ns}	0,0025 ^{ns}
Interação (CxHxA)	6	4,3259 ^{ns}	0,4684**	0,0019 ^{ns}
Resíduo	72	4,6564	0,1403	0,0013
C.V.(%)		18,7015	21,2725	6,3765
Médias e teste de Tukey¹				
IAPAR 43-Aratã		9,4458B	1,6418B	0,5430B
IAC Fava Larga		13,6313A	1,8800A	0,5798A

^{ns}: não significativo (P > 0,05);

* : significativo (P < 0,05);

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

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

modo geral, que o crescimento das raízes da cultivar IAC Fava Larga foi maior em comparação com a cultivar IAPAR 43-Aratã (Tabela 7).

Para a interação das cultivares em cada disponibilidade hídrica (C x H), verificou-se pelo teste de Tukey que as plantas da cultivar IAPAR 43-Aratã apresentaram-se com menor densidade de raízes nos tratamentos de 60%, sem restrição hídrica, e no tratamento de 40%, com restrição hídrica moderada (Tabela 8), enquanto que a cultivar IAC Fava Larga apresentou plantas com maior densidade de raízes em todos os tratamentos. Considerando os efeitos negativos do tratamento de 60% na parte aérea

Tabela 8. Teste de Tukey dos efeitos da disponibilidade hídrica (C x H), na densidade e no diâmetro médio das raízes de guandu, IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, 20 dias após o transplântio.

Cultivares	Médias e teste de Tukey ¹		
	Disponibilidade Hídrica (%)		
	60	40	20
	Densidade das Raízes (mm cm ⁻³ de solo)		
IAPAR 43-Aratã	1,5693B	1,6200B	1,7362A
IAC Fava Larga	1,9582A	1,9904A	1,6915A
	Diâmetro Médio das Raízes (mm)		
IAPAR 43-Aratã	0,5407A	0,5294B	0,5589B
IAC Fava Larga	0,5525A	0,5879A	0,5993A

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

da cultivar IAPAR 43-Aratã, como a redução da altura e do número de folhas (Tabela 4), os menores valores de densidade e diâmetro médio das raízes, sob o mesmo tratamento, podem inferir que, esta cultivar tenha alta sensibilidade às condições de excesso de água (NENE, 1990), que para o seu sistema radical esteja entre 40% e 60% dos poros preenchidos. Ainda, os resultados obtidos (Tabela 8) revelam que, o tratamento de estresse hídrico moderado (40%) provocou um menor crescimento das raízes da cultivar IAPAR 43-Aratã, e o tratamento mais severo (20%) provocou uma redução acentuada no diâmetro médio de raízes para esta cultivar.

Também, observa-se que o tratamento de 20% não causou na cultivar IAPAR 43-Aratã as mesmas respostas para densidade e diâmetro médio de raízes, 1,7362A e 0,5589B, respectivamente; (Tabela 8). Este resultado também foi observado na leguminosa forrageira cunhã (*Clitoria ternatea* L.), sendo que nesta espécie o elevado crescimento do sistema radical, em massa seca, no tratamento de 20% foi expresso em função do próprio calibre (diâmetro) e não do comprimento das raízes (FERREIRA, 2001). O diâmetro das raízes poderia, então, ser considerado um parâmetro mais adequado para mensurar o real crescimento do sistema radical quando exposta a um estresse hídrico mais severo (20%).

É interessante notar que, o parâmetro densidade evidencia o crescimento em quantidade de raízes, enquanto que parâmetro diâmetro evidencia o crescimento mais vigoroso das raízes (raízes mais grossas). Portanto, é nítido visualizar pelos resultados obtidos que, o tratamento de estresse hídrico moderado (40%) provocou um menor crescimento das raízes da cultivar IAPAR 43-Aratã (Tabela 8).

Para a interação das cultivares em cada tratamento de acidez do solo (C x A, Tabela 7), o teste de Tukey para massa seca de raízes (Tabela 9) revelou acentuada redução na cultivar IAPAR 43-Aratã em todos os tratamentos de acidez do solo. A densidade de raízes, contudo, foi reduzida no pH 5,3 e 4,8. Também, verificou-se que nos pH de 5,9; 5,3 e 4,8, ocorreu redução significativa para o diâmetro médio de raízes (Tabela 9). De fato, os resultados evidenciam que somente a massa seca de raízes foi reduzida significativamente no pH mais baixo (4,1) onde a quantidade de alumínio era de $9 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$, indicando que na cultivar IAPAR 43-Aratã, não houve alteração no volume (densidade) e espessura (diâmetro). Assim, este resultado significativo pode inferir que a massa seca de raízes é um parâmetro mais adequado para avaliar o crescimento das raízes sob efeito de elevada acidez do solo.

De fato, os resultados para a massa seca de raízes mostra (Tabela 9) que a cultivar IAPAR 43-Aratã é muito mais sensível à acidez do solo que a cultivar IAC Fava Larga. Isto, também foi verificado na cultivar IAPAR 43-Aratã sob efeito de concentrações crescentes de alumínio, 0,25, 0,5 e $1,0 \text{ mmol dm}^{-3}$, em solução nutritiva de Clark (COSSOLINI, 2000). Em seis cultivares de girassol os tratamentos com alumínio reduziram em 50% a massa seca de raízes (KRIZEK et al., 1988). O crescimento das plântulas de feijão em pH decrescentes (5,5, 5,0 e 4,5) foi significativamente diminuído em consequência da redução acentuada do crescimento das raízes, sendo a cultivar Conquista considerada mais sensível a acidez elevada, pois apresentou menores valores de comprimento de raiz (CUSTÓDIO, 2002). De um modo geral, sob condições de acidez elevada do solo ocorre redução da massa, comprimento e densidade de raízes, entretanto na faixa de pH entre 5,0 e 7,5 o comprimento pode ser diretamente ou indiretamente inibido dependendo do genótipo (BALIGAR et al. 1998). Realmente, a partir de 10 mg L^{-1} , ocorreu redução na massa seca do sistema

Tabela 9. Teste de Tukey dos efeitos da acidez do solo (C x A), na massa seca, densidade e diâmetro médio das raízes de guandu, IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, 20 dias após o transplântio.

Cultivares	Médias e teste de Tukey ¹			
	pH em CaCl ₂			
	5,9	5,3	4,8	4,1
Massa Seca das Raízes (mg)				
IAPAR 43-Aratã	0,0106B	0,0088B	0,0096B	0,0088B
IAC Fava Larga	0,0124A	0,0144A	0,0152A	0,0125A
Densidade das Raízes (mm cm ⁻³ de solo)				
IAPAR 43-Aratã	1,7467A	1,7078B	1,7669B	1,3459A
IAC Fava Larga	1,6842A	2,2503A	2,2023A	1,3833A
Diâmetro Médio das Raízes (mm)				
IAPAR 43-Aratã	0,5497B	0,5184B	0,5258B	0,5780A
IAC Fava Larga	0,5983A	0,5843A	0,5571A	0,5797A

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

radical de 30 genótipos de guandu, todavia os resultados não foram similares, pois dependendo da resposta do genótipo pode-se classificar as plantas de guandu como sensíveis, moderadamente sensíveis e tolerantes à acidez (NARAYANAN e SYAMALA, 1989).

Para uma avaliação em conjunto de todas as características fisiológicas (variáveis) estudadas pelas análises multivariadas de agrupamento e de componentes principais (SNEATH e SOKAL, 1973), o dendrograma, resultante da análise de agrupamento dos tratamentos utilizados, mostrou a existência de três grupos, G1, G2 e G3 (Figura 2), sendo o G1 caracterizado pela disponibilidade hídrica de 20% (H3) e os grupos G2 e G3 caracterizados pelas cultivares IAC Fava Larga (C2) e IAPAR 43-Aratã (C1), respectivamente. Ainda ressalta-se que, nestes dois últimos grupos não houve influência das disponibilidades hídricas e também da acidez no solo, pois indistintamente, estes fatores aparecem nos grupos formados por ambas cultivares.

No conjunto das avaliações fisiológicas analisadas, considerando todos os

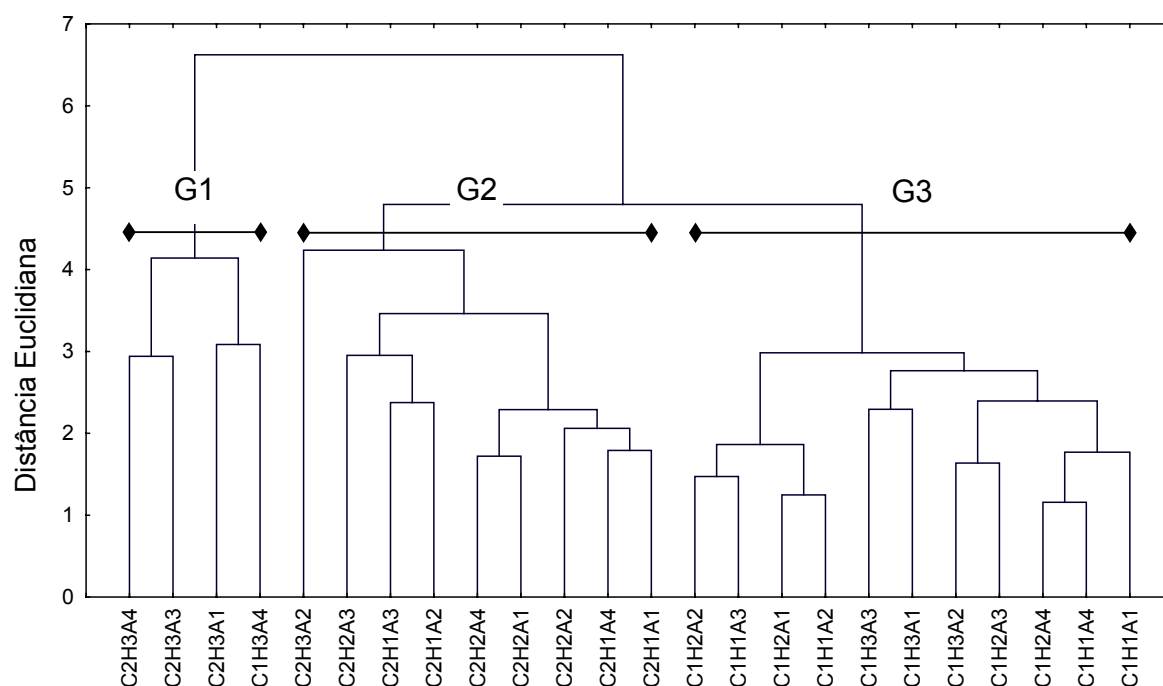


Figura 2. Dendrograma da análise de agrupamento dos tratamentos utilizados.

tratamentos, a análise de componentes principais permitiu a construção de gráficos bidimensionais (Figura 3). Os dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2) são os que retêm maior quantidade de informação do conjunto original de variáveis, tendo neste estudo acumulado 82,1917% (Tabela 10). Assim, considerando os tratamentos de disponibilidade hídrica, o conjunto das avaliações fisiológicas analisadas, como a altura (0,9368), número de folhas (0,9145), área foliar (0,9677), massa fresca de folhas (0,9200), massa fresca de caules (0,9233) e densidade de raízes (0,6611), apresentaram alta correlação positiva, e apenas a prolina (-0,7408) apresentou alta correlação negativa com o CP1 (Tabela 10). Neste caso, os tratamentos de 60 e 40% de disponibilidade hídrica, que estão localizados à direita no eixo CP1, tendem a proporcionar às plantas condições favoráveis ao desenvolvimento, e conseqüentemente nessas condições as cultivares apresentaram menores teores de prolina (Figura 3A).

Com relação às cultivares, o conjunto das avaliações fisiológicas analisadas,

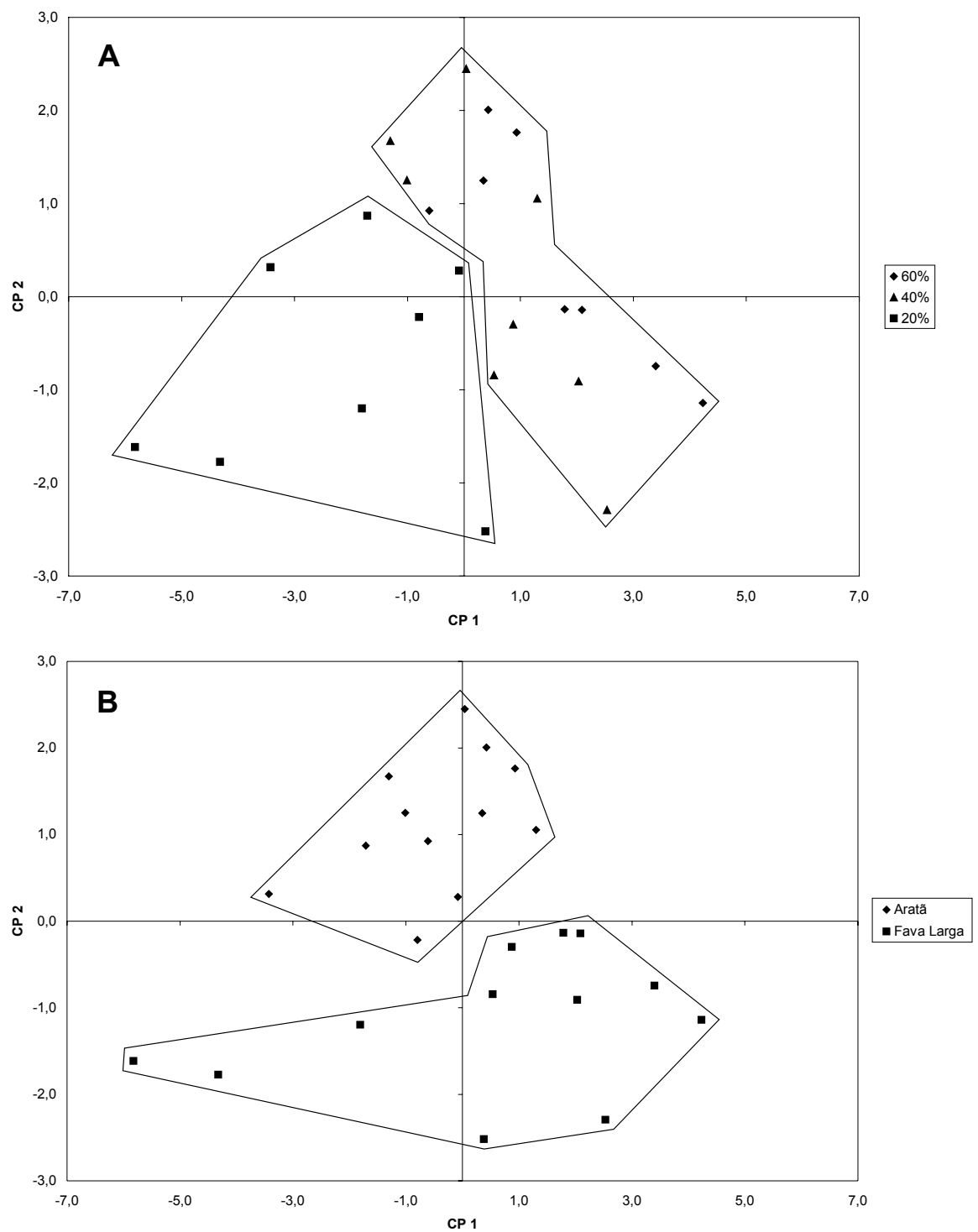


Figura 3. Distribuição dos tratamentos de disponibilidade hídrica (A) e distribuição das cultivares IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga (B), nos dois primeiros componentes principais. CP1: Componente Principal 1. CP2: Componente Principal 2.

Tabela 10. Análise multivariada de componentes principais para avaliação conjunta de todas as características fisiológicas

Dados da análise multivariada de componentes principais		
	CP 1	CP 2
Porcentagem acumulada	60,7866	82,1917
Correlação entre as características fisiológicas e os componentes principais		
	CP 1	CP 2
Altura (cm)	0,9368	0,2522
Número de folhas	0,9145	-0,0201
Área Foliar (dm ²)	0,9677	-0,0832
Massa Fresca de Folhas (g)	0,9200	-0,2142
Massa Fresca de Caules (g)	0,9233	-0,0256
Massa Seca de Raízes (mg)	0,2360	-0,9310
Densidade de Raízes (mm cm ⁻³ de solo)	0,6611	-0,4319
Diâmetro Médio de Raízes (mm)	-0,2828	-0,6875
Prolina (μmoles g m f ⁻¹)	-0,7408	-0,5320

CP1: Componente Principal 1

CP2: Componente Principal 2

como a massa seca de raízes (-0,9310), o diâmetro médio (-0,6875), a prolina (-0,5320) e a densidade de raízes (-0,4319) apresentaram correlação negativa com o CP2 (Tabela 10). Neste caso a cultivar IAC Fava Larga que está isolada da cultivar IAPAR 43-Aratã e localizada abaixo no eixo CP2, tende a apresentar maiores valores para estas avaliações fisiológicas (Figura 3B). Neste caso, apenas essas avaliações possibilitaram separar as cultivares considerando sua tolerância aos efeitos dos estresses provocados pela disponibilidade hídrica e acidez do solo, apresentando a cultivar IAC Fava Larga como sendo a mais tolerante à ambos estresses.

Avaliações morfo anatômicas

Os teores de alumínio apresentam-se muito mais elevados nas raízes que na parte aérea (MALAVOLTA, 1980), possivelmente, porque a permeabilidade nessas

células é maior do que em outras regiões (Rasmussem, 1968, citado por PINTRO et al., 1995). Também, por ser um elemento de pouca mobilidade dentro da planta (EPSTEIN, 1974), os efeitos deste elemento são mais evidentes no sistema radical, que se apresenta normalmente com uma diminuição da permeabilidade e do crescimento celular (FOY, 1988; CAMBRAIA et al., 1990), pois as raízes que são danificadas pelo alumínio, conseguem crescer apenas em um volume limitado de solo (WRIGHT, 1989).

Através dos cortes anatômicos nota-se que as raízes de ambas cultivares de guandu apresentaram-se normais (Figuras 4A e 5A), isto é possuem epiderme com uma camada de células, córtex constituído de células parenquimáticas poliédricas, endoderme bem diferenciada e quatro arcos de xilema, caracterizando uma raiz tetrarca, típica de plantas dicotiledôneas (DAMIÃO-FILHO, 1993)

As alterações anatômicas nos ápices radicais das cultivares IAPAR 43-Aratã e IAC Fava Larga, evidenciam que a presença de alumínio provocou uma desorganização nos tecidos (Figura 4B e 5B) como o aparecimento de células parenquimáticas com maior área no córtex. No cilindro vascular observa-se que ocorreu uma desorganização da endoderme e do periciclo causando a perda da forma circular do cilindro. Também houve um desarranjo dos arcos do xilema provocando uma aglomeração dos tecidos na região central do cilindro vascular, o aparecimento de elementos de vasos com aumento pronunciado de diâmetro, um número maior de células de xilema e um aparente espessamento das paredes celulares do xilema e do floema (Figura 4B e 5B). Em plantas de beterraba cultivadas em solução nutritiva com concentrações acima de 4 mg L⁻¹ de alumínio, também foi verificada uma desorganização nos tecidos das raízes, estas plantas apresentaram células com padrões irregulares sem uma distribuição normal, sendo as células parenquimáticas do córtex com tamanhos discrepantes e algumas demasiadamente grandes, enquanto outras muito pequenas (KESER et al., 1975).

O alumínio também reduz a quantidade de amiloplastos das células da coifa da raiz e inibe a produção das vesículas secretoras produzidas pelo Complexo de Golgi, resultando em uma desorganização celular generalizada e, conseqüentemente, inibindo o alongamento celular (BENNET et al., 1987).

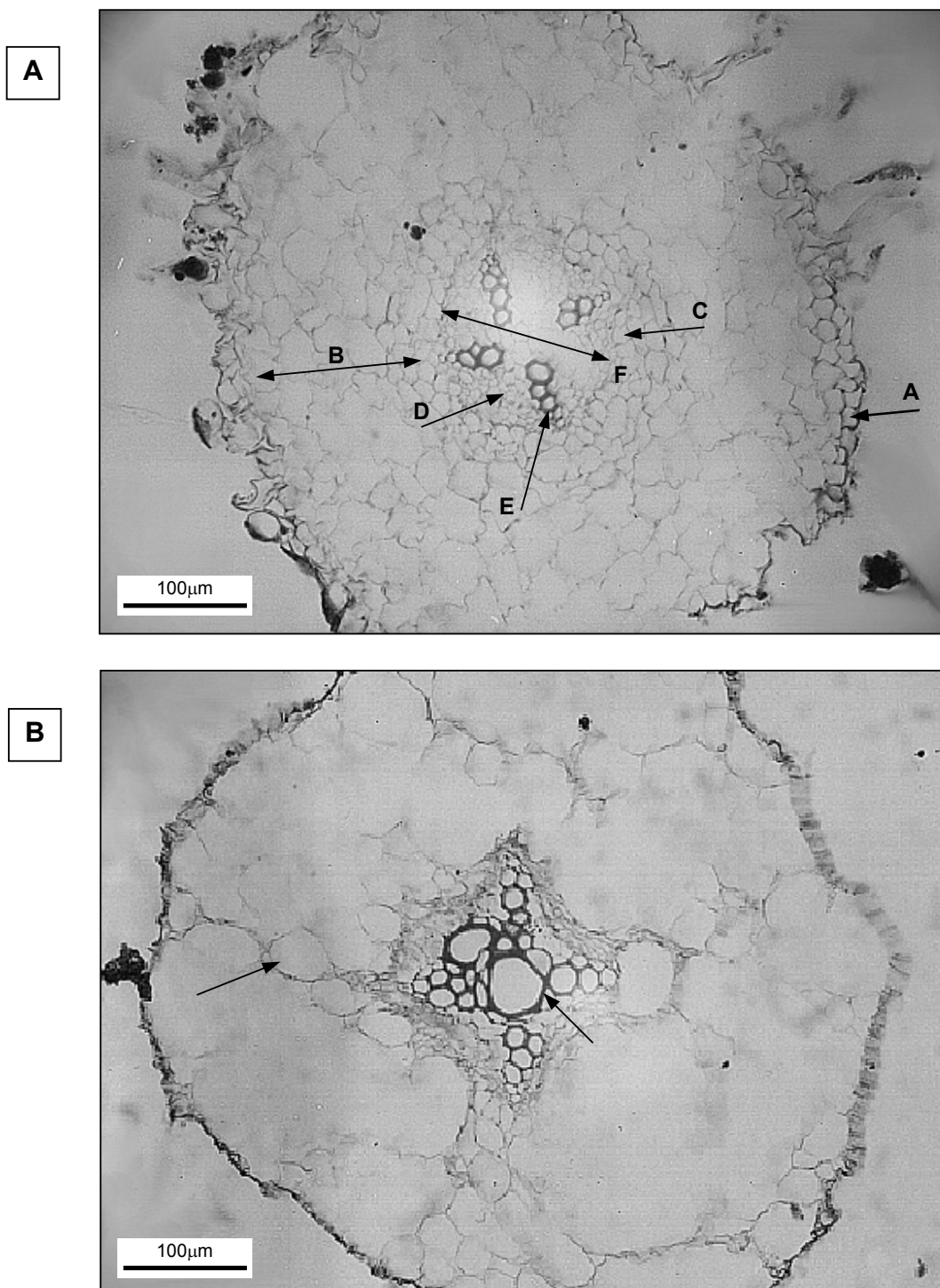


Figura 4. Micrografias de secções transversais dos ápices radicais de guandu, cultivar IAPAR 43-Aratã, submetidos aos tratamentos de pH, na disponibilidade hídrica de 40%, 20 dias após o transplântio (x400). **A.** pH 5,8; $\text{Al}^{3+} = 0,0 \text{ mmol}_e \text{ dm}^{-3}$. **B.** pH 4,1; $\text{Al}^{3+} = 9,0 \text{ mmol}_e \text{ dm}^{-3}$. Epiderme (A); Córtex (B); Endoderme (C); Floema (D); Xilema (E); Cilindro vascular (F).

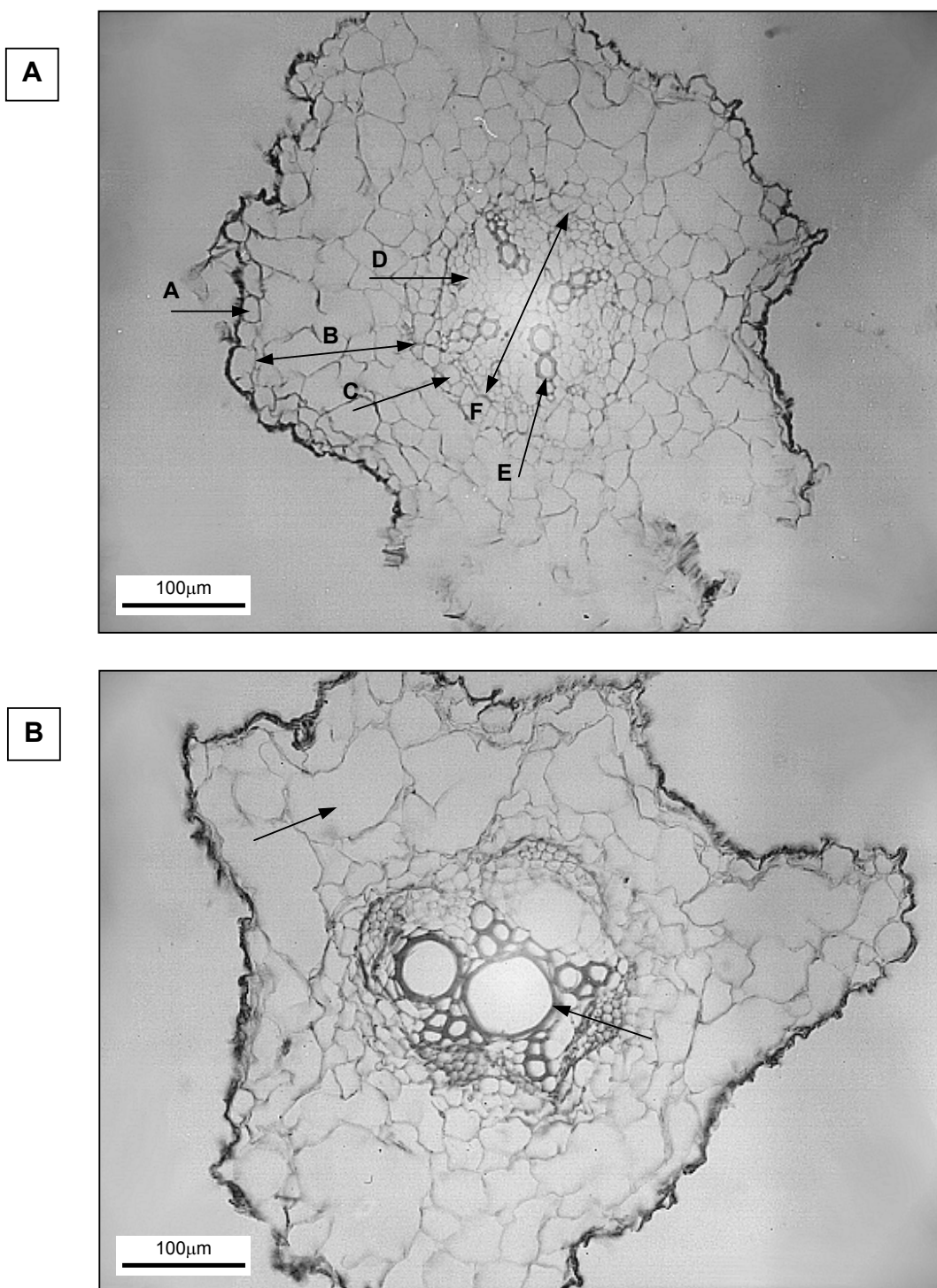


Figura 5. Micrografias de secções transversais dos ápices radicais de guandu, cultivar IAC Fava Larga, submetidos aos tratamentos de pH, na disponibilidade hídrica de 40%, 20 dias após o transplante (x400). **A.** pH 5,8; $\text{Al}^{3+} = 0,0 \text{ mmol}_e \text{ dm}^{-3}$. **B.** pH 4,1; $\text{Al}^{3+} = 9,0 \text{ mmol}_e \text{ dm}^{-3}$. Epiderme (A); Córtex (B); Endoderme (C); Floema (D); Xilema (E); Cilindro vascular (F).

O alumínio facilmente entra na raiz pela via apoplásto entretanto, há evidências de interações potencialmente prejudiciais do alumínio com a parede celular e a membrana plasmática, neste caso pode ser que exista a necessidade do alumínio ser transportado via simplasto. Estas interações poderiam ocorrer da seguinte forma, o alumínio em ligação com os compostos pécnicos ou proteínas da parede celular poderia diminuir a extensibilidade ou a condutividade hidráulica, também o alumínio poderia deslocar ou substituir outros íons da parede celular ou da membrana promovendo sua desestabilização (DELHAIZE e RYAN, 1995).

De fato o acúmulo de alumínio na epiderme, hipoderme, córtex e endoderme de raízes (WAGATSUMA, 1984) e as interações entre este íon com a parede celular e/ou com a membrana plasmática podem explicar a ocorrência da desorganização observada nos tecidos das raízes de guandu, como por exemplo, o aparecimento de células parenquimáticas com maior área no córtex, a perda da forma circular do cilindro vascular em função da desorganização da endoderme e do periciclo.

É interessante verificar que houve diferença significativa no crescimento de ambas cultivares, sendo a IAPAR 43-Aratã mais sensível aos efeitos do alumínio que a IAC Fava Larga, entretanto, os efeitos deletérios do alumínio nas raízes de ambas cultivares foram praticamente similares (Figura 4A, 5A, 4B e 5B), não permitindo evidenciar, de qual cultivar, o sistema radical poderia ser considerado mais tolerante à presença de alumínio no solo.

Conclusões

- ✓ A cultivar IAPAR-43 Aratã apresentou um menor crescimento da parte aérea e do sistema radical tanto em condições de restrição hídrica quanto de acidez do solo, comparada com a IAC Fava Larga.
- ✓ Em condições de restrição hídrica severa a cultivar IAC Fava Larga pode ser considerada mais tolerante, pois apresentou maior acúmulo de prolina.

- ✓ A presença de alumínio no solo simultaneamente com a restrição hídrica severa apresentaram um efeito sinérgico sobre os teores de prolina livre.
- ✓ As avaliações morfo-anatômicas não apresentaram respostas que evidenciassem a tolerância diferencial para o alumínio entre as cultivares.

REFERÊNCIAS

- ALCÂNTARA, P. B.; BUFARAH, G. **Plantas forrageiras: gramíneas & leguminosas**. 4. ed. São Paulo: Nobel, 1988. 162 p.
- ALVES, S. J.; MEDEIROS, G. B. Leguminosas em renovação de pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE ECOSSISTEMAS DE PASTAGENS, 3., 1997, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 1997. p. 251-272.
- ANDRIOLI, I.; CENTURION, J. F. Levantamento detalhado dos solos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 27., 1999, Brasília. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1999. p. 32. (T025-3 CD-ROM).
- BALIGAR, V. C.; FAGERIA, N. K.; ELRASHIDI, M. A. Toxicity and nutrient constrains on root growth. **HortScience**, Alexandria, v. 33, n. 6, p. 960-965, 1998.
- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 3. ed. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 247 p.
- 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, p. 205-207, 1973.
- 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.
- BRAY, E. A. Plant responses to water deficit. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 2, p. 48-54, 1997.

- BURLE, M. L.; RODRIGUES, G. C. Relações hídricas internas da soja sob deficit hídrico em condições de campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 6, p. 905-913, 1990.
- 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. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 2, n. 2, p. 47-52, 1990.
- CHARTZOULAKIS, K.; NOITSAKIS, B.; THERIOS, I. Photosynthesis, plant growth and dry matter distribution in kiwifruit as influenced by water deficits. **Irrigation Science**, Berlin, v. 14, p. 1-5, 1993.
- COGO, N. P.; GUERRA, M. Água no solo e rendimento das culturas em experimentos em casa-de-vegetação. I. Sorgo (*Sorghum vulgare*), em solos vertissolo, latossolo roxo distrófico e podzólico vermelho amarelo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 2, p. 10-17, 1978.
- COSSOLINI, P. C. **Influência do alumínio na germinação e no crescimento de duas cultivares de guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp., Fabaceae)**. 2000. 98 f. Trabalho de Graduação em Agronomia - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2000.
- COSTA, A.; BRAGA J. M. Resposta de variedades de soja a diferentes níveis de fósforo e saturação de alumínio. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 31, n. 178, p. 434-431, 1984.
- CUSTÓDIO, C. C.; BOMFIM, D. C.; SATURNINO, S. M.; MACHADO NETO, N. B. Estresse por alumínio e por acidez em cultivares de soja. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 1, p. 145-153, 2002.
- DAMIÃO FILHO, C. F. **Morfologia vegetal**. Jaboticabal: FUNEP, 1993. 243 p.
- DELHAIZE, E.; RYAN, P. R. Aluminum toxicity and tolerance in plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 107, n. 2, p. 315-321, 1995.
- EPSTEIN, E. **Nutrição mineral das plantas: princípios e perspectivas**. São Paulo: EDUSP, 1974. 335 p.
- FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C.; JONES, C. A. **Growth and mineral nutrition of field crops**. 2. ed. New York: M. Dekker, 1997. 624 p.

- FERREIRA, V. M. **Aspectos fisiológicos de cunhã (*Clitória ternatea* L.) submetida a estresse hídrico e sombreamento**. 2001. 107 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2001.
- FOY, C. D. Plant adaptation to acid, aluminum-toxic soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Monticello, v. 19, p. 959-987, 1988.
- FUENTE-MARTÍNEZ, 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.
- FUMIS, T. F.; PEDRAS, J. F. Variação nos níveis de prolina, diamina e poliaminas em cultivares de trigo submetidas a déficits hídricos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 4, 2002.
- HAMEL, F.; BRETON, C.; HOUDE, M. Isolation and characterization of wheat aluminum-regulated genes: possible involvement of aluminum as a pathogenesis response elicitor. **Planta**, Berlin, v. 205, p. 531-538, 1998.
- 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.
- HARRIS, G. A.; CAMPBELL, G. S. Automated quantification of roots using a simple image analyser. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, p. 935-938, 1989.
- HSIAO, T. C. Plant responses to water stress. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 24, p. 519-570, 1973.
- INGRAN, J.; BARTELS, D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 47, p. 377-403, 1996.
- KARAMANOS, A. J.; DROSSOPOULOS, J. B.; NIAVIS, C. A. Free proline accumulation during development of two wheat cultivars with water stress. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 100, p. 429-439, 1983.
- KARDPAL, R. P.; RAO, N. A. Alterations in the biosynthesis of proteins and nucleic acids in finger millet (*Eleusine coracana*) seedlings during water stress and effect of proline on protein biosynthesis. **Plant Science**, Oxford, v. 40, p. 73-79, 1985.

- KESER, M.; NEUBAUER, B.F.; HUTCHINSON, F.E. Influence of aluminum ions on developmental morphology of sugarbeet roots. **Agronomy Journal**, Madison, v. 67, p. 84-88, 1975.
- KIYOSUE, T.; YOSHIBA, Y.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. A nuclear gene encoding mitochondrial proline de-hydrogenase, an enzyme involved in proline metabolism, is upregulated by proline but downregulated by dehydration in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, Rockville, v. 8, p. 1323-1335, 1996.
- KLAR, A.E.; VILLA NOVA, N.A.; MARCOS, Z.Z.; CERVellini, A. Determinação da umidade do solo pelo método das pesagens. In: ANAIS DA ESALQ/USP. 23., 1966, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: ESALQ/USP, 1966. p.15-30.
- KOCHIAN, L. V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 46, p. 237-260, 1995.
- KRAMER, P. J. **Plant and water relationship: a modern synthesis**. New York: McGraw-Hill, 1969. 482 p.
- KRIZEK, D. T.; FOY, C. D.; WERGIN, W. P. Role of water stress in differential aluminum tolerance of six sunflower cultivars grown in an acid soil. **Journal of Plant Nutrition**, Monticello, v. 11, n. 4, p. 387-408, 1988.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa Artes e Textos, 2000. 531 p.
- LUDLOW, M. M.; NG, T. T.; FORD, C. W. Recovery after water stress of leaf gas exchange in *Panicum maximum* var. trichoglume. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v. 7, p. 299-313, 1980.
- MADAN, S.; NAINAWATEE, H. S.; JAIN, R.K.; CHOWDHURY, J. B. Proline and proline metabolizing enzymes in in-vitro selected NaCl-tolerant *Brassica juncea* L. under salt stress. **Annals of Botany**, London, v. 76, p. 51-57, 1995.
- MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. 251 p.
- MANLY, B. F. J. **Multivariate statistical methods**. London: Chapman & Hall, 1994. 215 p.

- MÔRO, F. V. **Tolerância de genótipos de milho (*Zea mays* L.) ao herbicida nicosulfuron**. 2000. 88 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2000.
- 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 Maharashtra Agricultural Universities**, Pune, v. 21, n. 1, p. 140-141, 1997.
- 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.
- NENE, Y. L.; HALL, S. D.; SHEILA, U. K. **The pigeonpea**. Cambridge: CAB, 1990. 490 p.
- NOGUEIRA, R. J. M. C.; SANTOS, R. C.; BEZERRA NETO, E.; SANTOS, V. F. Comportamento fisiológico de duas cultivares de amendoim submetidas a diferentes regimes hídricos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 12, p. 1963-1969, 1998.
- PALFI, G.; JUHASZ, J. The theoretical basis and practical application of a new method of selection for determining water deficiency in plants. **Plant and Soil**, The Hague, v. 34, p. 503-507, 1971.
- PEREZ, S. C. J. A. Crescimento e resistência à seca da algarobeira (*Prosopis juliflora* Sw. D.C.) cultivada em solo de cerrado, com ou sem adubo orgânico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 5, p. 595-604, 1995.

- 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. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 7, n. 2, p.129-134, 1995.
- 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, 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.
- 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.
- SATAKOPAN, V. N.; BASKARAN, G.; SANKAR, M. Protective influence of phytotonic concentrations of Al^{3+} on mannitol induced water stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.) seedlings. **Indian Journal of Plant Physiology**, New Delhi, v. 33, n. 4, p. 374-375, 1990.
- SNEATH, P. H. A.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy**. San Francisco: W. H. Freeman, 1973. 573 p.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 3. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2002. 757 p.
- TURNER, N. C.; BEGG, J. E. Responses of pasture plants to water deficit. In: WILSON, J. R. **Plant relations in pastures**. Melbourne: CSIRO, 1978. p.50-60.
- van RAIJ, B.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. 2. ed. Campinas: Instituto Agrônomo/Fundação IAC, 1997. 285 p. (Boletim técnico, 100).
- VIEIRA, R. F.; SALGADO, L. T. A cultura do guandu. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 16, n. 174, p. 52-60, 1992.
- WAGATSUMA, T. Characteristics of upward translocation of aluminum in plants. **Soil Science and Plant Nutrition**, Crawley, v. 30, n. 3, p. 345-358, 1984.

- 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**, Melbourne, v. 49, p. 3-169, 1983.
- WRIGHT, R. J. Soil aluminum toxicity and plant growth. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Monticello, v. 20, p. 1479-1497, 1989.
- YANG, Y. H., CHEN, S. M. Physiological effects of aluminum/calcium ratios on aluminum toxicity of mungbean seedling growth. **Journal of Plant Nutrition**, Monticello, v. 24, n. 3, p. 585-597, 2001.
- 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.