



CONCENTRAÇÃO DE PROLINA NA CULTURA DO MILHO SUBMETIDO AO ESTRESSE SALINO E ADUBAÇÃO NITROGENADA EM DOIS SOLOS

R. dos S. Braz¹, M. da S. de S. Ribeiro², W. J. F. de Medeiros³, E. V. de Oliveira⁴,
C. H. C. de Sousa⁵, C. F. de Lacerda⁶.

RESUMO: A adubação nitrogenada pode reduzir os danos da salinidade às culturas, pois o aumento de compostos orgânicos nitrogenados, como a prolina, contribuem para o ajuste osmótico celular. Porém, a disponibilidade de N no solo também depende das propriedades texturais. Assim, objetivou-se verificar o efeito da salinidade da água de irrigação e adubação nitrogenada no acúmulo de prolina no milho cultivado em dois solos. Utilizou-se o DIC em fatorial 2x2x4: solos (Argissolo e Neossolo), doses de N (210 e 105 kg ha⁻¹ de N) e salinidade da água de irrigação (0,5, 2, 4 e 6 dS m⁻¹), com quatro repetições. 67 dias após a semeadura foram selecionadas as três primeiras folhas totalmente expandidas para determinar a concentração de prolina. A maior dose de N proporcionou maior acúmulo de prolina no Argissolo, mas não no Neossolo. O aumento da salinidade da água de irrigação provoca acréscimo no teor de prolina nas folhas do milho, independente do tipo de solo e da dose de N.

PALAVRAS-CHAVE: Salinidade, solutos orgânicos, *Zea mays* L.

PROLINA CONCENTRATION IN MAIZE CROP SUBMITTED TO SALT STRESS AND NITROGEN FERTILIZATION IN TWO SOILS

ABSTRACT: Nitrogen fertilization can reduce salinity damage on crops, because the increase of organic nitrogen compounds, such as proline, contribute to the cellular osmotic adjustment. However, the availability of N in the soil also depends on the textural properties. Thus, the objective was to verify the effect of salinity of irrigation water and nitrogen fertilization on the accumulation of proline in maize grown in two soils. The completely randomized design in 2x2x4 factorial was used: soils (Ultisol and Neosol), nitrogen rates (210 and 105 kg ha⁻¹ of N)

¹ Doutorando em Ciência do Solo, Universidade Federal do Ceará (UFC), Av. Mister Hull, 2977, Bloco 807, CEP: 60440-554, Fortaleza, CE. Fone (85) 3366 9688. E-mail: regismta@bol.com.br.

² Doutoranda em Engenharia Agrícola, UFC, Fortaleza, CE.

³ Doutoranda em Ciência do Solo, UFC, Fortaleza, CE.

⁴ Mestranda em Engenharia Agrícola, UFC, Fortaleza, CE.

⁵ Doutor em Engenharia Agrícola, UFC, Fortaleza, CE.

⁶ Professor Doutor, Depto de Engenharia Agrícola, UFC, Fortaleza, CE.

and levels of irrigation water salinity (0.5, 2, 4 and 6 dS m⁻¹), with four replicates. 67 days after sowing the first three fully expanded leaves were selected to determine the proline concentration. The higher N dose provided greater proline accumulation in the Ultisol, but not in the Neosol. The increase in the salinity of the irrigation water causes an increase in the proline content in the maize leaves, regardless of the soil type and the dose of N.

KEYWORDS: Salinity, organic solutes, *Zea mays* L.

INTRODUÇÃO

A salinidade é uma das principais causas de redução da produtividade agrícola em regiões áridas e semiáridas. No entanto, a resposta das plantas ao estresse salino depende de diversos fatores como a espécie, tipos de sais (Tester & Davénport, 2003), estágio fisiológico e duração do estresse (Silveira, et al., 2001), podendo, assim, causar alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas nas plantas (Filippou et al., 2014).

Os efeitos osmóticos, tóxicos e nutricionais da salinidade causam redução do crescimento das culturas (Munns & Tester, 2008). Como consequência, ocorre uma menor extração de nutrientes do solo pelas plantas (Neves et al., 2009), que associada a redução da disponibilidade de nutrientes pela competição na absorção e no transporte dentro da planta (Aragão et al., 2010), agrava os distúrbios nutricionais.

Dessa forma, a salinidade pode levar à deficiência de nutrientes essenciais (Feijão et al., 2013). Dentre eles o nitrogênio, um dos principais elementos essenciais e constituinte de biomoléculas como proteínas, ácidos nucleicos e aminoácidos (McAllister et al., 2012), que também é apontado como uma das estratégias de manejo capazes de reduzir os efeitos deletérios do estresse salino e promover o crescimento das plantas, quando há aumento da sua oferta (Barhoumi et al., 2010).

Entretanto, além da salinidade interferir na aquisição e na utilização do nitrogênio (Feijão et al., 2013), quando a vegetação e topografia se mantêm constantes, as propriedades texturais também podem afetar o conteúdo de nitrogênio no solo (Stevenson, 1982). Assim, esses dois fatores podem influenciar a disponibilidade deste elemento, que tem sido sugerido como um dos principais fatores responsáveis pela redução dos danos causados pela salinidade às culturas.

Essa diminuição dos efeitos ocorre porque em condições de maior oferta deste nutriente, há maior acúmulo de compostos orgânicos contendo nitrogênio como a prolina e glicinabetaína (Munns & Tester, 2008), que atuam no ajuste osmótico celular, considerado um dos principais

mecanismos fisiológicos para manutenção da turgescência sob condições de baixo potencial hídrico (Marijuan & Bosch, 2013).

O ajuste ocorre por meio do aumento de solutos compatíveis osmoticamente ativos na célula, a exemplo da prolina, que no vacúolo ou no citosol contribuem para a manter o equilíbrio hídrico e preservar a integridade de proteínas, enzimas e membranas celulares (Ashraf et al., 2011). Com isto, o aumento destes solutos eleva a pressão osmótica das células, mantendo a absorção de água e a pressão de turgescência celular, o que contribui para a continuidade dos processos fisiológicos (Marijuan & Bosch, 2013). Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da salinidade da água de irrigação e adubação nitrogenada no acúmulo de prolina em folhas de milho cultivado em dois solos com texturas diferentes.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em casa de vegetação na Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza - Ceará, de abril a junho de 2016. De acordo com a classificação de Köppen o clima é do tipo Aw', tropical chuvoso, muito quente, com chuvas nas estações do outono e verão. A cultura utilizada, foi o milho (*Zea mays* L.), híbrido duplo BRS 2020.

Foram coletados dois solos com texturas diferentes, um ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO Eutrófico típico e um NEOSSOLO QUARTZARÊNICO Órtico típico. Ambos foram separados por horizontes, destorroados e peneirados em malha de 5 mm.

As plantas foram cultivadas em colunas de policloreto de vinila (PVC), com dimensões de 200x1000 mm. Na parte interna das colunas foi colada uma camada de areia grossa para aumentar a rugosidade e diminuir o fluxo preferencial de água. A base da coluna foi fechada com uma tampa (CAP), feita uma perfuração e colocada uma mangueira para coletar a água drenada. A montagem das colunas foi realizada obedecendo-se a sequência dos horizontes dos solos como encontravam-se no campo, compactando até atingir densidade de $1,53 \text{ g cm}^{-3}$.

Os tratamentos foram arranjados em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com fatorial 2x2x4: solos (Argissolo e Neossolo), doses de nitrogênio (210 kg ha^{-1} e 105 kg ha^{-1}) e níveis de salinidade da água de irrigação (0,5; 2,0; 4,0 e $6,0 \text{ dS m}^{-1}$), com quatro repetições.

Depois do desbaste (10 dias após semeadura - DAS) se iniciou a irrigação com águas salinas, realizada diariamente procurando manter uma fração de lixiviação de 15%. Os níveis salinos da água de irrigação foram obtidos por meio da adição de NaCl e $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ na proporção de 7:3, respectivamente. A adubação com N e K foi parcelada em quatro vezes: 15

% 10 DAS, 25 % 25 DAS, 25 % 40 DAS e 35 % aplicado 55 DAS. A adubação dos demais nutrientes foi feita em fundação conforme a recomendação para a cultura.

Aos 67 dias após a semeadura as plantas foram coletadas e nesta ocasião selecionou-se as três primeiras folhas totalmente expandidas. As quais imediatamente após serem retiradas das plantas foram congeladas com nitrogênio líquido e armazenadas no freezer. Depois passaram pelo processo de liofilização e posteriormente as folhas foram trituradas.

A determinação da concentração de prolina nas folhas do milho foi realizada de acordo com o método de Bates et al. (1973), usando os reagentes ninhidrina ácida, ácido acético glacial, ácido fosfórico e o tolueno. As leituras de absorvância foram feitas em 520 nm e os resultados expressos em $\mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$.

Os dados foram submetidos a análise de variância e teste de Tukey utilizando o software Assistat 7.7 e análise de regressão por meio do Excel 2016.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A salinidade da água de irrigação (C) e a interação entre os fatores solo e doses de nitrogênio (AxB) afetaram significativamente a concentração de prolina nas folhas de milho, ambos com $P < 0,05$. Porém não foi observado o efeito isolado do solo (A), doses de nitrogênio (B) e das interações entre solos e salinidade (AxC) e salinidade e as doses (BxC), bem como da interação tripla AxBxC (Tabela 1).

Na tabela 2 é mostrado o teste de médias aplicado para a concentração de prolina nas folhas de milho, onde pode-se observar que para a dose de 210 kg ha^{-1} de N o Argissolo apresentou maior conteúdo de prolina em comparação ao Neossolo. Já para a redução da dose em 50 %, 105 kg ha^{-1} de N, não houve diferença estatística entre os solos estudados.

A principal causa da diminuição do crescimento das plantas sob estresse salino é o efeito osmótico, seguido do efeito tóxico. Porém, de acordo com Fageria et al. (2011) abaixa disponibilidade de nitrogênio também pode ser responsável por essa redução em condições de salinidade. Dessa forma, o aumento na oferta de nitrogênio pode resultar em um melhor desempenho das plantas sob estresse salino.

Porém, além da salinidade interferir na aquisição e utilização do nitrogênio pelas plantas (Feijão et al., 2013), as propriedades texturais do solo também podem exercer influências sobre a dinâmica deste nutriente (Stevenson, 1982). Pois solos arenosos tendem a adsorver menos nutrientes em comparação aos solos com alto teor de argila (fração mais reativa do solo), devido

a predominância da fração areia, que apresenta baixo poder de adsorção, facilitando a perda de nutrientes por lixiviação.

Assim, o Argissolo apresentou aumento no conteúdo de prolina em detrimento do Neossolo, devido a sua maior capacidade de reter nutrientes, aumentando a disponibilidade de nitrogênio e, conseqüentemente resultando em maior acúmulo de compostos orgânicos contendo N, como a prolina (Munns & Tester, 2008). De acordo com Buso & Kliemann (2003), o teor de nitrogênio total dos solos são estreitamente associados à textura, e em solos arenosos as perdas são proporcionalmente mais rápidas do que nos solos mais argilosos. Sangoi et al. (2003) também constaram que a perda de nitrogênio na forma de amônia por volatilização é maior e mais rápida em solos arenosos que em solos argilosos.

Avaliando o efeito das duas doses de nitrogênio dentro do Argissolo, vê-se que a dose de 210 kg ha⁻¹ de N proporcionou maior concentração de prolina em detrimento da menor dose. No entanto, para o Neossolo não se observou diferença do conteúdo de prolina em relação as doses de nitrogênio.

O Argissolo por possuir expressivo teor de argila e, portanto, maior reatividade nas trocas catiônicas e aniônicas, reduzindo as perdas de nutrientes, proporcionou um aumento no conteúdo de prolina quando adubado com a maior dose, pois com maior disponibilidade de nitrogênio, mais prolina pode ser sintetizada. Feijão et al. (2013) ao avaliarem o efeito no nitrogênio na forma de nitrato no acúmulo de solutos orgânicos em plantas de milho submetidas à salinidade verificaram que o aumento na concentração de nitrato resultou em acréscimos no acúmulo de prolina.

Já no caso do Neossolo, que do ponto de vista granulométrico possui predominância da fração areia, as perdas de nitrogênio são mais pronunciadas. Essas perdas podem ocorrer tanto devido ao efeito da baixa reatividade das partículas do solo, quanto devido a textura arenosa que permite maior lixiviação dos nutrientes. Assim, com a aplicação da maior dose, parte do nitrogênio pode ter sido perdida não sendo possível seu aproveitamento pelas plantas, justificando a ausência de diferença estatística no conteúdo de prolina para as doses de nitrogênio no Neossolo.

Na figura 1 é apresentado o conteúdo de prolina nas folhas de milho em relação a condutividade elétrica da água de irrigação, na qual é possível observar que o melhor modelo de regressão que se ajustou aos dados foi a regressão polinomial de 2ª ordem, mostrando que houve um aumento da concentração de prolina à medida que se elevou a salinidade da água de irrigação. Houve um acréscimo de 25,35% na concentração de prolina nas folhas de milho

quando irrigado com água de condutividade de $6,0 \text{ dS m}^{-1}$, em comparação ao tratamento controle, $0,5 \text{ dS m}^{-1}$.

O aumento da adubação nitrogenada pode reduzir os efeitos deletérios da salinidade sobre as culturas e promover o seu crescimento (Bashoumi et al., 2010). Isto ocorre devido a maior disponibilidade de nitrogênio para as plantas, resultando em maior acúmulo de compostos orgânicos contendo nitrogênio (Munns & Tester, 2008). No presente estudo, no entanto, esse efeito não foi confirmado, visto que o aumento no teor de prolina em função do estresse salino (Figura 1) não foi influenciado nem pelo tipo de solo e nem pela dose de N (Tabela 1).

As plantas sob estresse salino podem ativar diversos mecanismos de proteção, como o acúmulo de solutos orgânicos compatíveis, a exemplo da prolina. Em resposta a esta condição adversa de crescimento, as plantas tendem a aumentar a acumulação destes tipos de solutos no vacúolo ou no citosol, os quais contribuem para a manter o equilíbrio hídrico e preservar a integridade de proteínas, enzimas e membranas celulares (Ashraf et al., 2011).

O acúmulo de prolina nos tecidos das plantas é considerado como uma resposta ao estresse salino, podendo favorecer o ajustamento osmótico (Lúcio, 2008), permitindo a manutenção da turgescência, crescimento e fotossíntese, sob baixos valores de potencial hídrico de folha (Morgan, 1984). O aumento do conteúdo de prolina também promove a eliminação de radicais livres, atua na sinalização celular, participa do equilíbrio de oxirredução e na indução da expressão de genes (Ashraf & Harris, 2005). Em plantas sob estresse, o conteúdo de prolina pode aumentar até 100 vezes, em comparação ao observado em plantas cultivadas sob condições normais (Verbruggen & Hermans, 2008).

CONCLUSÕES

A maior dose de N proporcionou maior acúmulo de prolina no Argissolo, mas não no Neossolo. O aumento da salinidade da água de irrigação provoca acréscimo no teor de prolina nas folhas do milho, independente do tipo de solo e da dose de N.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade - INCTSal, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAGÃO, R.M.; SILVEIRA, J.A.G.; SILVA, E.N.; LOBO, A.K.M.; DUTRA, A.T.B. Absorção, fluxo no xilema e assimilação do nitrato em feijão-caupi submetido à salinidade. *Revista Ciência Agronômica*, v.41, p.100-106, 2010.

ASHRAF, M.; AKRAM, N.A.; ALQURAINY, F.; FOOLAD, M.R. Drought tolerance: roles of organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients. *Advances in Agronomy*, v.111, p.249-296, 2011.

ASHRAF, M.; HARRIS, P.J.C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, v.166, p.3-16, 2005.

BARHOUMI, Z.; ATIA, A.; RABHI, M.; DJEBALL, W.; ABDELLY, C.; SMAOUI, A. Nitrogen and NaCl salinity effects on the growth and nutrient acquisition of the grasses *Aeluropus littoralis*, *Catapodium rigidum*, and *Brachypodium distachyum*. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, v.173, p.149-157, 2010.

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

BUSO, W.H.D.; KLIEMANN, H.J. Relações de carbono orgânico e de nitrogênio total e potencialmente mineralizável com o nitrogênio absorvido pelo milho. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v.33, p.97-105, 2003.

FAGERIA, N.K.; GHEYI, H.R.; MOREIRA, A. Nutrient bioavailability in salt affected soils. *Journal of Plant Nutrition*, v.34, p.945-962, 2011.

FEIJÃO, A.R.; E MARQUES, E.C.; SILVA, J.C.B.; LACERDA, C.F.; PRISCO, J.T.; GOMES-FILHO, E. Nitrato modula os teores de cloreto e compostos nitrogenados em plantas de milho submetidas à salinidade. *Bragantia*, v.72, p.10-19, 2013.

FILIPPOU, P.; BOUCHAGIER, P.; SKOTTI, E.; FOTOPOULOS, V. Proline and reactive oxygen/nitrogen species metabolism is involved in the tolerant response of the invasive plant species *Ailanthus altissima* to drought and salinity. *Environmental and Experimental Botany*, v.97, p.1-10, 2014.

LÚCIO, W.S. Respostas fisiológicas e bioquímicas em meloeiro (*Cucumis melo* L.) inoculado com fungos micorrízicos arbusculares sob estresse salino. 2008. 75p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

MARIJUAN, M.P.; BOSCH, S.M. Ecophysiology of invasive plants: osmotic adjustment and antioxidants. *Trends in Plant Science*, v.18, p.660-666, 2013.

McALLISTER, C.H.; BEATTY, P.H.; GOOD, A.G. Engineering nitrogen use efficient crop plants: the current status. *Plant Biotechnology Journal*, v.10, p.1011-1025, 2012.

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

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, v.59, p.651-681, 2008.

NEVES, A.L.R., LACERDA, C.F.; GUIMARÃES, F.V.A.; HERNANDEZ, F.F.F.; SILVA, F.B.; PRISCO, J.T.; GHEYI, H.R. Acumulação de biomassa e extração de nutrientes por plantas de feijão-de-corda irrigadas com água salina em diferentes estádios de desenvolvimento. *Ciência Rural*, v.39, p.758-765, 2009.

SANGOI, L.; ERNANI, P.R.; LECH, V.A.; RAMPAZZO, C. Volatilização de N-NH₃, em decorrência da forma de aplicação de ureia, manejo de resíduos e tipo de solo, em laboratório. *Ciência Rural*, v.33, p.687-692, 2003.

SILVEIRA, J. A. G.; MELO, A. R. B.; VIÉGAS, R. A.; OLIVEIRA, J. T. A. Salt-induced effects on the nitrogen assimilation related to growth in cowpea plants. *Environmental and Experimental Botany*, v.46, p.171-179, 2001.

STEVENSON, F.J. Origin and distribution of nitrogen in soil. In: STEVENSON, F.J., ed. *Nitrogen in agricultural soils*. Madison: American Society of Agronomy, 1982. p.67-122.

TESTER, M.; DAVÉNPORT, R. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Annals of Botany*, v.19, p.503-527, 2003.

VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids*, v.35, p.753-759, 2008.

Tabela 1. Resumo da análise de variância referente aos dados de concentração de prolina em folhas de milho cultivado sob estresse salino e adubação nitrogenada em dois solos.

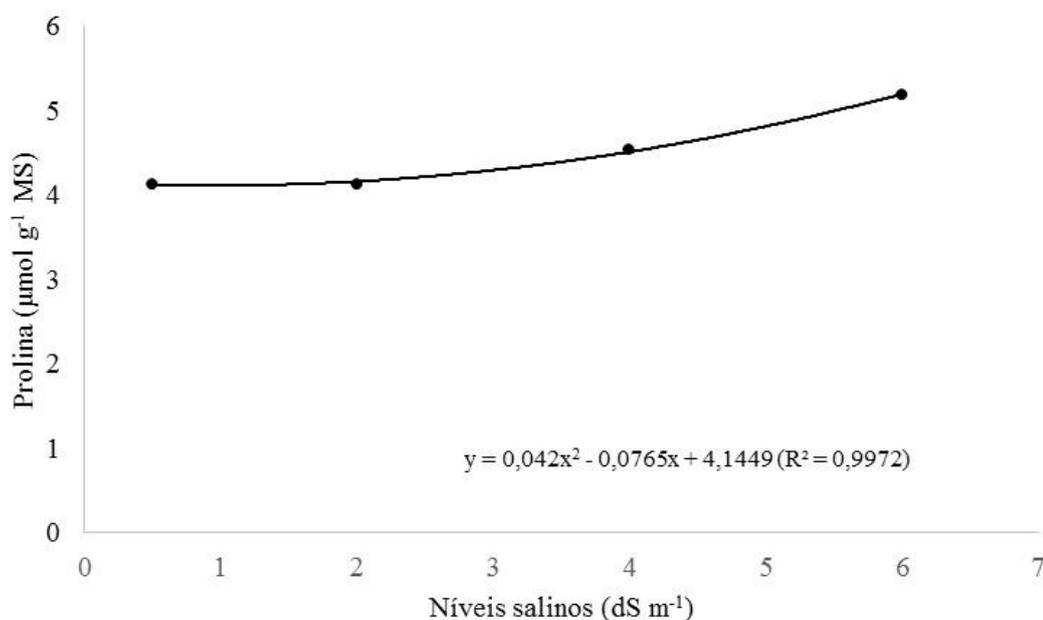
Fontes de variação	GL	Quadrado Médio
		Prolina
Solo (A)	1	2,34109ns
Dose (B)	1	2,64139ns
Salinidade (C)	3	3,96969*
AxB	1	5,46183*
AxC	3	3,36178ns
BxC	3	0,73726ns
AxBxC	3	2,06887ns
Resíduo	48	1,23250
Total	63	-
CV (%)	-	24,68

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$), * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$), ^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$) e CV = coeficiente de variação.

Tabela 2. Teste de médias referente a concentração de prolina em folhas de milho cultivado sob estresse salino e adubação nitrogenada em dois solos.

Solo	Teste de Tukey	
	Dose	
	210 kg ha ⁻¹ de N	105 kg ha ⁻¹ de N
Argissolo	5,1846 aA	4,1940 aB
Neossolo	4,2178 bA	4,3957 aA

As médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

**Figura 1.** Concentração de prolina em folhas de milho cultivado sob estresse salino e adubação nitrogenada em dois solos.

