

Variação diurna e sazonal do pH e composição mineral da seiva do xilema em tomateiro

Maria Neudes S. Oliveira¹; Marco Antonio Oliva²; Carlos Alberto Martínez³; Marco Aurélio P. e Silva²

¹ Faculdades Federais Integradas de Diamantina, Depto. Ciências Agrárias, 39.100-000 Diamantina-MG. E-mail: mneudes@bol.com.br;

²UFV, Depto. Biologia Vegetal, 36.571-000 Viçosa-MG. E-mail: moliva@ufv.br; ³ USP, FFCRP, Depto. Biologia, 14.040-901 Ribeirão Preto-SP; E-mail: carlosamh@ffclrp.usp.br.

RESUMO

Variações diárias e sazonais do pH e composição mineral da seiva do xilema foram medidas em plantas de tomateiro com 40 dias, cultivadas em solução nutritiva e em casa de vegetação, visando avaliar os fatores que regulam sua variação. No primeiro experimento, a seiva foi coletada, sempre às 9:00 horas, em alguns meses do ano, em plantas da mesma idade. No segundo, a coleta da seiva ocorreu ao longo do dia, sempre na mesma planta. No terceiro, a seiva foi coletada em dois locais na planta, a 5 cm acima do colo e na base do pecíolo da 5ª folha. Na seiva, avaliaram-se o pH e as concentrações de Ca^{+2} , K^+ , Mg^{+2} , NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{-3} e SO_4^- . O pH variou de 5,3 a 6,4 no período experimental. pH acima de 6,0 ocorreu nos meses com maior temperatura média ambiente e o menor valor, 5,4, nos meses com menor temperatura ambiente. Potássio foi o cátion e nitrato o ânion encontrados em maior concentração na seiva. Considerando a variação diurna, uma maior concentração de nitrato, proporção cátions/ânions e pH ocorreram na seiva coletada à tarde. Considerando a variação sazonal, a maior concentração de nitrato e a proporção cátions/ânions ocorreram na seiva coletada nos meses com menor temperatura média e menores valores de pH. O pH da seiva exsudada do caule a 5 cm acima do colo foi menos ácido (pH 6,13) quando comparado ao pH da seiva exsudada no pecíolo da 5ª folha (pH 5,64). Os resultados sugerem que os fatores que regulam o pH da seiva influenciam diferentemente nas variações diurna e sazonal do pH.

ABSTRACT

Seasonal and diurnal changes on pH and mineral composition of tomato xylem sap

Mineral composition and pH seasonal and diurnal changes of xylem sap were measured in tomato plants, 40 days old, cultivated in nutritive solution under green house conditions in order to evaluate the factors that can regulate it. On a first experiment, the sap was obtained from different plants, same age, always at 9:00 AM, during selected months. On a second experiment, the sap was obtained through the day, at different times, in a single plant. On the third experiment, the xylem sap was collected from two different positions in the plant body, at 5 cm up from the soil surface, and at the base of the 5th leaf petiole. The pH and Ca^{+2} , K^+ , Mg^{+2} , NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{-3} and SO_4^- from the collected saps were analyzed. The pH varied from 5.3 to 6.4 during the seasonal experiment period. The pH above 6.0 was verified on the months with higher mean temperatures and the pH of 5.4 occurred during the colder months. Potassium and nitrate were the ions found in higher concentrations in the sap. On the diurnal changes experiment, higher values of nitrate, cation/anion ratio and pH were found during the afternoon readings. On the seasonal experiment the nitrate concentration and cation/anion ratio of the sap were higher during the months with lower mean temperatures and lower pH values. The pH of the sap exudates from the stem at 5 cm above the soil surface showed a less acid value (pH 6.13) than the sap collected from the petiole base (pH 5.64). The results obtained suggest that the factors regulating the sap pH affect in different ways the seasonal and diurnal variations of the pH and mineral concentration in tomato plants.

Palavras-chave: *Lycopersicon esculentum*, pH, nutrientes, seiva xilemática.

Keywords: *Lycopersicon esculentum*, pH, nutrient, xylem sap.

(Recebido para publicação em 22 de agosto de 2001 e aceito em 20 de dezembro de 2002)

Diversos são os estudos que buscam avaliar as interações entre os constituintes da seiva do xilema que podem interferir na sinalização raiz-parte aérea em plantas. Tem sido mostrado que o pH e alguns nutrientes da seiva contribuem nessa sinalização. Reduções na taxa transpiratória e na condutância estomática estão geralmente associadas ao pH, níveis de ácido abscísico (ABA) e de nutrientes do fluxo transpiratório (Wilkinson & Davies, 1997; Wilkinson *et al.*, 1998).

As interações podem não ser de natureza geral e mudanças diurnas e/

ou sazonais na composição da seiva do xilema podem influenciá-las. A composição iônica e o pH apresentam variações diurnas, sazonais e até mesmo ao longo do percurso xilemático, da base para o ápice do caule (Schurr & Schultze, 1995; Schill *et al.*, 1996). As variações diurnas e sazonais do pH são atribuídas às variações de temperatura e de radiação, que influenciam a atividade da H^+ -ATPase e, por sua vez, o pH (Wilkinson, 1999). As variações diurnas e sazonais na composição iônica e de açúcares da seiva apoplástica

também podem alterar a atividade da H^+ -ATPase (Wilkinson, 1999).

É interessante identificar e quantificar o conteúdo da seiva do xilema para substâncias sinalizadoras e/ou moduladoras que ajudem a coordenar o comportamento entre raiz e parte aérea. Um requerimento inerente nesse caso é a necessidade de estimar quantitativamente as mudanças que ocorrem no conteúdo da seiva do xilema, uma vez que ela contém minerais, hormônios e outras substâncias fisiologicamente importantes e que são potencialmente capazes de atuar como

senalizadoras. Este trabalho é o primeiro de uma série que relaciona constituintes orgânicos e inorgânicos da seiva do xilema de tomateiro e o comportamento estomático e teve como objetivo avaliar as alterações diurnas e sazonais do pH e do teor de nutrientes da seiva do xilema dessa espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Condições de cultivo

Os experimentos foram conduzidos entre outubro/99 e janeiro/01. Frequentemente, sementes do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.) cultivar Santa Clara foram colocadas para germinar em areia, de modo que as plantas apresentassem 40 dias de idade, contados a partir da semeadura, por ocasião das avaliações.

Dezoito dias após a semeadura, as plântulas foram transferidas para recipientes contendo 2,5 L de solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), meia força, pH 6,5, e mantidas em casa de vegetação. As médias mensais de temperatura ambiente foram obtidas de uma estação microclimática modelo LI-1200 (LI-COR), localizada dentro da casa de vegetação. A solução nutritiva era trocada a cada dois dias e o volume de água repostado diariamente com água destilada.

Experimento 1

No início dos meses de outubro e dezembro de 1999 e abril, junho (início e final), julho (início e final), agosto, setembro e outubro de 2000, um grupo de 20 plantas com 40 dias de idade foi transferido para uma sala de crescimento com fotoperíodo de 14 horas (iniciando-se às 8:00 horas), densidade de fluxo fotossintético (DFF) de 500 mmol m⁻² s⁻¹, temperatura entre 20-23°C e umidade relativa do ar entre 60-63%. Nessas plantas, em cada época, sempre às 9:00 horas, foi realizada uma coleta de seiva do xilema para análise de nutrientes e pH.

Experimento 2

Nos meses de fevereiro e maio de 1999, setembro e dezembro de 2000 e janeiro de 2001, foi coletada seiva do xilema ao longo do dia (8:00, 13:00 e

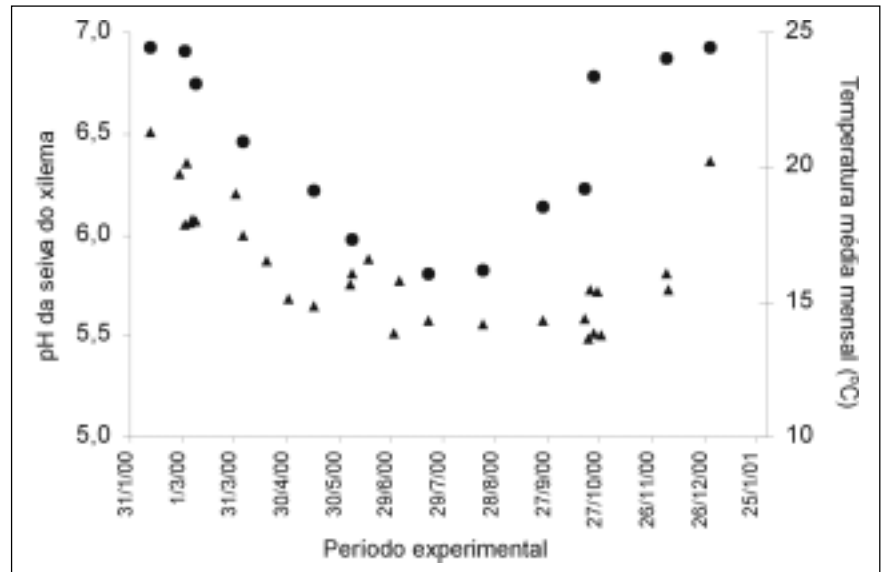


Figura 1. Temperatura média mensal (●) e pH da seiva do xilema de plantas do tomateiro com 40 dias de idade (▲), durante o período de avaliação. Viçosa, UFV, 2001.

17:00 horas), sempre na mesma planta, para análise do pH. Nas coletas de dezembro de 2002, feitas às 9:00, 11:00, 14:00 e 16:00 horas, realizou-se também a análise de nutrientes.

Experimento 3

Para verificar se havia diferença no pH e na composição de nutrientes da seiva do xilema coletada em diferentes locais na planta, numa única ocasião, foi realizada uma terceira coleta de seiva a 5 cm acima do colo e na base do pecíolo da 5ª folha.

Coleta e análise da seiva do xilema

Para a coleta da seiva foi feita uma excisão no caule a 5 cm acima do colo da planta, destacando-se a parte aérea (experimentos 1 e 2). Foi feita também uma excisão no pecíolo da 5ª folha, destacando-a (experimento 3). Os cortes foram lavados com água destilada e o exsudato, coletado com o auxílio de uma pipeta Pasteur durante 30 minutos, foi utilizado para análise do pH e posteriormente colocado em nitrogênio líquido e armazenado a -20°C até análise de nutrientes (uma semana após). Os teores de Ca²⁺ e Mg²⁺ foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica e o K⁺, por fotometria de chama. Os teores de NO₃⁻, PO₄⁻³, NH₄⁺ e SO₄⁻ foram determinados espectrofotometricamente, segundo Cataldo *et al.*

(1975), Lindeman (1958), MacCulough (1967) e Malavolta *et al.* (1989), respectivamente.

Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. No experimento 1, cujos tratamentos foram representados pelas seivas coletadas nas várias épocas do ano, utilizaram-se dez repetições para a análise do pH e cinco para a análise de nutrientes. Cada repetição representava a mistura da seiva de duas e quatro plantas, respectivamente. Nos experimentos 2 e 3, os tratamentos foram representados pela seiva coletada nas várias horas do dia e em dois locais, respectivamente, utilizando-se quatro repetições de uma planta cada, para a avaliação do pH e nutriente. Os dados foram submetidos à análise de variância e quando se observou significância pelo teste F, foi feita a comparação entre as médias pelo teste de Tukey, ambos até 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios do pH da seiva do tomateiro 'Santa Clara' (Figura 1) estão na faixa dos observados no apoplasto/xilema do tomateiro por Jackson *et al.* (1996) e Wilkinson *et al.* (1998). Os valores de pH acima de 6,0

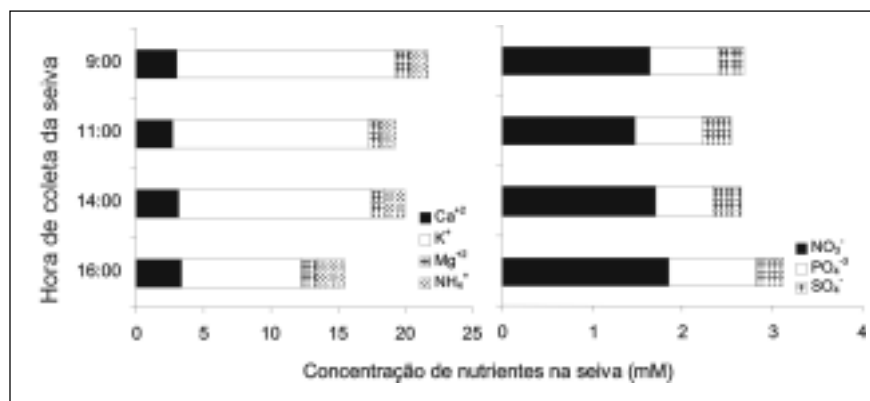


Figura 2. Variação diurna da concentração de cátions (esquerda) e de ânions (direita) na seiva do xilema coletada no caule a 0,05 m acima do colo de plantas do tomateiro com 40 dias de idade, no mês de dezembro de 2000. Viçosa, UFV, 2001

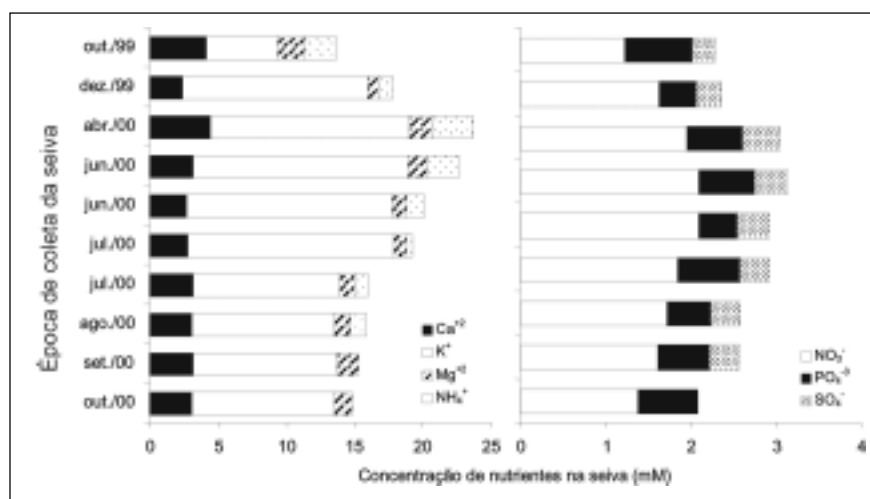


Figura 3. Variação sazonal da concentração de cátions (esquerda) e de ânions (direita) na seiva do xilema coletada no caule a 0,05 m acima do colo de plantas do tomateiro com 40 dias de idade. Viçosa, UFV, 2001

foram encontrados na seiva coletada nos primeiros meses do ano, quando as temperaturas médias mensais foram mais elevadas, em torno de 23°C. Os menores valores, entre 5,4-5,6, de junho a setembro, ocorreram quando a temperatura média mensal era de apenas 17°C. Os resultados obtidos diferem daqueles observados em outras espécies, em que o pH da seiva era mais ácido no início da primavera e mais próximo da neutralidade no inverno (Fromard *et al.*, 1995). Alguns autores atribuem as variações diurnas e sazonais do pH da seiva do xilema às variações de temperatura e de radiação, cujo aumento estimula a atividade da H⁺-ATPase, promovendo a liberação de íons H⁺ para o apoplasto e redução do

pH (Wilkinson, 1999). Considerando esse fato, era de se esperar que o menor valor de pH da seiva ocorresse nos meses de temperaturas ambientais mais elevadas. No entanto, a composição iônica da seiva (Gollan *et al.*, 1992) também apresenta variações diurnas e sazonais e pode alterar o pH.

Potássio foi o cátion e nitrato o ânion encontrados em maior concentração na seiva (Figuras 2 e 3). A concentração de nitrato, amônio e fosfato foi maior na seiva coletada à tarde, em relação à coletada pela manhã (Figura 2). A proporção cátions/ânions variou de 5 (manhã) a 8 (tarde), diferindo grandemente dos valores observados por Bialczyk & Lechowski (1995) em tomateiro cv. Ailsa, que foi de 1. Excesso de cátions

sobre ânions em apoplastos/xilema é uma observação comum (Dietz, 1997; Gabriel & Kesselmeier, 1999). Gabriel & Kesselmeier (1999) observaram no apoplasto de algumas espécies concentração de cátions inorgânicos quatro a 17 vezes maior que a de ânions, o que, segundo esses autores, está associada à alta capacidade de troca de cátions da parede celular, colocando o apoplasto como reservatório de cátions. O aumento no pH durante o dia poderia ser explicado em função do aumento na concentração de nitrato e na proporção cátions/ânions observados, concordando com as observações de Gollan *et al.* (1992) e Schurr *et al.* (1992). No entanto, considerando as variações nos meses, observa-se que as maiores concentrações de nitrato e dos cátions em geral na seiva ocorreram de abril a junho (Figura 3), coincidindo com a queda no pH da seiva (Figura 1). Esses resultados sugerem que outros fatores, além de nutrientes e atividade da H⁺-ATPase, regulam o pH da seiva do xilema, e que esses fatores influenciam diferentemente nas variações diurna e sazonal do pH. Composição de açúcares e ácidos orgânicos alteram o pH da seiva (Schill *et al.*, 1996; Patonnier *et al.*, 1999; Wilkinson, 1999).

O pH da seiva coletada em dezembro/00 e janeiro/01 apresentou amplitude diurna de 0,58 unidades: ficou em torno de $5,92 \pm 0,08$, nas coletas realizadas às 8:00 horas, e de $6,5 \pm 0,09$, nas realizadas às 17:00 horas (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Schurr & Schultze (1995) na seiva de *Ricinus communis*, na qual o pH aumentou de 6,0, no início da manhã, para 6,6, no final da tarde. Na seiva coletada em fevereiro, maio e setembro/99, o pH não apresentou variação diurna. À semelhança desses resultados foram os de Wilkinson *et al.* (1998) em tomateiro cv. Ailsa. Nesses trabalhos não são citadas as épocas em que foram realizadas as avaliações. As variações de amplitudes diurnas de pH observadas nas diferentes épocas de coleta da seiva podem estar relacionadas às amplitudes diurnas de temperatura, que não foram medidas no presente experimento.

A amplitude diurna na concentração dos nutrientes na seiva foi pequena, exceto para o potássio, cuja concentração variou de 8 a 16 mM. Essa pequena variação está aquém da observada por Schurr & Schultze (1996) na seiva do xilema de *Ricinus communis*, cuja amplitude diurna para constituintes minerais e orgânicos foi de até cinco vezes. Uma razão para tais diferenças pode estar no processo de obtenção da seiva. Segundo os autores, os transportes passivos e ativos de carregamento de constituintes do xilema podem ser alterados devido às diferenças nas taxas de fluxo entre uma planta intacta e outra, cujo sistema radicular foi separado da parte aérea. Segundo Huang *et al.* (1992), estudos em que a parte aérea tem que ser eliminada para a obtenção da seiva devem ser conduzidos dentro de um intervalo mínimo de tempo para evitar os efeitos deletérios da abscisão da parte aérea sobre a absorção.

Os resultados mostraram que houve variação de pH na seiva exsudada da quinta folha (Tabela 2). Variações desse tipo têm sido atribuídas às variações na concentração dos constituintes xilemáticos que ocorrem da base para o ápice (Schurr & Schultze, 1995). No entanto, os resultados observados por Schill *et al.* (1996) foram contrários aos observados no presente experimento. Nesse caso, o decréscimo do pH no ápice foi atribuído ao aumento de cinco vezes na concentração de malato da base para o ápice. O pH mais alcalino da seiva exsudada do pecíolo da quinta folha de tomateiro não pode ser atribuído à variação nos teores dos nutrientes analisados, uma vez que não houve diferenças de concentração nos dois locais de coleta da seiva (Tabela 2). Portanto, esse comportamento pode ser devido a outros constituintes xilemáticos não analisados no presente experimento. Considerando que em alguns sítios apoplásticos próximos às células-guarda, o pH pode ser mais alcalino que no apoplasto da epiderme e este mais alcalino que no xilema (Wilkinson, 1999), e que o pH torna-se mais alcalino à medida que distancia da base do caule (Schurr &

Tabela 1. Variação do pH da seiva do xilema do tomateiro em função do mês e hora de coleta. Viçosa, UFV, 2001

Mês	8:00 horas	17:00 horas
Fev./1999	6,2a(3,2)	6,3a(2,1)
Mai./1999	5,6a(2,2)	5,6a(0,37)
Set./1999	5,5a(1,4)	5,6a(0,6)
Dez./2000	5,6b(0,9)	6,1a(1,1)
Jan./2001	6,0b(2,3)	6,6a(1,9)

*Médias seguidas da mesma letra, nas linhas, indicam que os valores não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os números entre parênteses indicam os coeficientes de variação (%).

Tabela 2. Variação do pH e da concentração de nutrientes (mM) da seiva do xilema do tomateiro em função do local de coleta, na planta. Viçosa, UFV, 2001.

Parâmetro avaliado	5 cm acima do solo	Base pecíolo 5ª folha
PH	5,64b(4,2)	6,13a(5,7)
Nitrato	1,95a(5,5)	2,21a(0,27)
Fosfato	0,46a(0,2)	0,50a(3,85)
Potássio	20,3a(4,7)	19,1a(6,1)
Magnésio	1,34a(3,6)	1,35a(3,0)
Cálcio	6,89a(0,7)	6,89a(1,1)

*Médias seguidas da mesma letra, nas linhas, indicam que os valores não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os números entre parênteses indicam os coeficientes de variação (%).

Schultze, 1995), essas variações podem ter efeitos potenciais em regiões e/ou processos localizados dentro da folha, como o movimento estomático.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

LITERATURA CITADA

BIALCZYK, J.; LECHOWSKI, Z. Chemical composition of xylem sap of tomato grown on bicarbonate containing medium. *Journal of Plant Nutrition*, v. 18, n. 10, p. 2005-2021, 1995.
 CATALDO, D.A.; SCHRADER, L.E.; YOUNGS, V.L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Soil Science and Plant Analysis Communication*, v. 6, p. 71-80, 1975.
 DIETZ, K.J. Functions and responses of the leaf apoplast under stress. In: *Progress in Botany, structural botany, physiology, genetics, taxonomy, geobotany*. Berlin. Springer Verlag, p. 221-254. 1997.

FROMARD, L.; BABIN, V.; FLEURAT-LESSARD, P.; FROMONT, J.C.; SERRANO, R.; BONNEMAIN, J.L. Control of vascular sap pH by the vessels-associated cells in woody species. *Plant Physiology*, v. 108, p. 913-918, 1995.
 GABRIEL, R.; KESSELMEIER, J. Apoplastic solute concentration of organics acids and mineral nutrients in the leaves of several fagaceae. *Plant Cell Physiology*, v. 40, n. 6, p. 604-612, 1999.
 GOLLAN, T.; SCHURR, U.; SCHULTZE, E.D. Stomatal responses to drying soil in relation to changes in the xylem sap composition of *Helianthus annuus*. I. The concentration of cations, anions, amino acids in and pH of the xylem sap. *Plant, Cell and Environment*, v. 15, p. 551-559, 1992.
 HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water-culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station*, v. 347, p. 3-31, 1950.
 HUANG, Z.Z.; YAN, X.; JALIL, A.; NORLYN, J.D.; EPSTEIN, E. Short term experiments on ion transport by seedlings and excised roots. *Plant Physiology*, v. 100, p. 1914-1920, 1992.
 LINDEMAN, W. Observations on the behavior of phosphate compounds in *Clorella* at transition from dark to light. In: UNITED NATIONS INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE PEACEFUL USES OF ATOMIC ENERGY, 2, 1958, Geneva. *Proceedings...* Geneva:[s.n.], 1958. v. 24, pt.1, p. 8-15: Isotopes in Biochemistry and Physiology.

- MACCULOUGH, H. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clinica Chimica Acta*, v. 17, p. 297-304, 1967.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; E OLIVEIRA, S.A. *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potássio e do Fósforo, 1989. 201 p.
- PATONNIER, M.P. PELTIER, J.P. MARIGO, G. Drought-induced increase in xylem malate and mannitol concentrations and closure of *Fraxinus excelsior* L. stomata. *Journal of Experimental Botany*, v. 50, n. 336, p. 1223-1229, 1999.
- SCHILL, V.; HARTUNG, W.; ORTHEN, B.; WEISENSEEL, M.H. The xylem sap of maple (*Acer platanoides*) trees-sap obtained by a novel method shows changes with season and height. *Journal Experimental of Botany*, v. 47, p. 123-133, 1996.
- SCHURR, U.; GOLLAN, T.; SCHULTZE, E.D. Stomatal response to drying soil in relation to changes in the xylem sap composition of *Helianthus annuus*. II. Stomatal sensitivity to abscisic acid imported from the xylem sap. *Plant, Cell and Environment*, v. 15, p. 561-567, 1992.
- SCHURR, U.; SCHULTZE, E.D. The concentration of xylem sap constituents in root exudate, and in sap from intact, transpiring castor bean plants (*Ricinus communis* L.). *Plant, Cell and Environment*, v. 18, p. 409-420, 1995.
- SCHURR, U.; SCHULTZE, E.D. Effects of drought on nutrient and ABA transport in *Ricinus communis*. *Plant, Cell and Environment*, v. 19, p. 665-674, 1996.
- WILKINSON, S.; CORLETT, J.E.; OGER, L.; DAVIES, W.J. Effects of xylem pH on transpiration from wild-type and *flacca* tomato leaves. *Plant Physiology*, v. 117, p. 703-709, 1998.
- WILKINSON, S. pH as a stress signal. *Plant Growth Regulation*, v. 29, p. 87-99, 1999.
-