UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

ALINE GRELLA DE CAMPOS

Avaliação do estado nutricional, taxa fotossintética e produção de biomassa do sorgo sacarino submetido a combinações de doses de nitrogênio e potássio

Piracicaba
2015

ALINE GRELLA DE CAMPOS

Avaliação do estado nutricional, taxa fotossintética e produção de biomassa do sorgo sacarino submetido a combinações de doses de nitrogênio e potássio

Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

Dissertação apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção de título de mestre em Ciências.

Área de Concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. José Lavres Junior

Piracicaba

2015

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Campos, Aline Grella de

Avaliação do estado nutricional, taxa fotossintética e produção de biomassa do sorgo sacarino submetido a combinações de doses de nitrogênio e potássio / Aline Grella de Campos; orientador José Lavres Junior. - - versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2015.

70 p. : il.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Carboxilação 2. Fotossíntese 3. Gramíneas 4. Nutrição vegetal I. Título

CDU 631.811 : 633.174

Dedico à minha família, em especial ao meu irmão Ale e aos amigos e colaboradores do CENA que contribuíram na ampliação do meu conhecimento e apoiaram na realização desta pesquisa.

Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende...
(Leonardo da Vinci)

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida.

Ao Prof. Dr. José Lavres Junior pelas orientações, paciência, compreensão, amizade, respeito e principalmente dedicação, incentivando e acreditando no meu potencial e "amadurecimento" profissional.

Ao Biólogo João Salvador, do Laboratório de Fertilidade do Solo do CENA, por me despertar o interesse na área de Nutrição Mineral de Plantas.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) que me recebeu de braços abertos oferecendo infraestrutura e pela excelência do curso de pós-graduação.

À Bióloga Cleusa Pereira Cabral pela amizade, conselhos e auxílios no experimento.

Ao pesquisador André May e a Embrapa Milho e Sorgo, pela doação das sementes.

Aos amigos: Antonio Leite, André Luiz, Bruno Zanchim, Cristiane Prezotto, Camila Vieira, Ezio Nalin, Felipe Furlan, Fernando Macedo, Fabiana Manarelli, Flávio Rabêlo, Felipe Alvarez, França, Joaquim Frazão, Luiz Tadeu, Marcelo, Raphael Garrone, Riviane Donha, Thiago Nogueira, Isabela e especialmente Elcio Ferreira, pela amizade, apoio e orientações nas análises laboratoriais.

Ao Glauco e a Juliana, não apenas pelo fornecimento da água deionizada, mas acima de tudo pela amizade.

Ao Prof. Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias do Laboratório de Análise Estatística da Escola Superior “Luiz de Queiroz”- ESALQ/USP, pelo auxílio nas análises estatísticas multivariadas.

Ao Prof. Dr. Cássio Hamilton Abreu, pela amizade.

À minha família, pela compreensão, apoio e paciência.

Ao Prof. Dr. Takashi Muraoka e Prof. Dr. Paulo Sergio Pavinato, pela dedicação e explicações de cálculos agronômicos de fertilidade do solo e adubação.

À Suzi Manesco, Gilson, Alzira, Adriana, Renata e Raquel pelo grande apoio e amizade.

À equipe da seção de Pós-graduação, a equipe da seção da Biblioteca do CENA, em especial a Marília Ribeiro Garcia Henyei e a equipe da biblioteca da ESALQ, às equipes da Seção de Manutenção e Seção Técnica de Informática que sempre auxiliaram nos momentos necessários.

À Naiara Celida, Valdevan Rosendo, Inês Possignolo, Marcella Nunes, Mônica Lanzzoni, Rafaella Migliavacca,, Verônica e a todos pela amizade e contribuição nos ensinamentos durante o período do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de estudo.

RESUMO

CAMPOS, A. G. **Avaliação do estado nutricional, taxa fotossintética e produção de biomassa do sorgo sacarino submetido a combinações de doses de nitrogênio e potássio.** 2015. 70 p. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

O crescimento da população mundial promove o aumento por consumo de alimentos e energia, além da necessidade de uso sustentável dos recursos naturais, a planta sorgo sacarino tem demonstrado eficiência na absorção e consumo de nutrientes fornecendo matérias-primas importantes como celulose, etanol, bioetanol e alimentos na forma de açúcares e farinhas. Porém, informações quanto à exigência nutricional e a adubação de sorgo sacarino são escassas. Sendo o N e o K os nutrientes mais exigidos por esta espécie, desenvolveu-se estudo aplicando combinações de doses de N e K na solução fornecida para o sorgo sacarino. Foi adotado o esquema fatorial 5^2 incompleto perfazendo treze combinações de N e K, das respectivas doses de N: 28, 112, 210, 336 e 462 $mg.L^{-1}$ combinados com as doses de K: 19.5, 117, 234, 312 e 429 $mg.L^{-1}$. O delineamento experimental foi de blocos casualizados e quatro repetições. Durante o experimento as variáveis avaliadas foram: determinação do índice SPAD, atividade da enzima redutase do nitrato (RNO_3^-), taxa de assimilação de CO_2 (A), carboxilação instantânea de CO_2 (A/C_i) e os acúmulos de N e K nas sementes, folhas, caule e raiz das plantas, posteriormente calculou-se o desenvolvimento radicular e a produção de biomassa seca por planta. Os resultados demonstraram aumento no índice SPAD com o crescimento do sorgo sacarino em todos os tratamentos, porém as maiores atividades da redutase do nitrato foram verificadas nas plantas dos tratamentos 112N/117K e 112N/312K. A maior produção de biomassa, área foliar e acúmulo de N na parte aérea e raízes foram no tratamento 336N/117K. As maiores quantidades acumuladas de K nas plantas foram observadas no caule dos tratamentos 336N/117K, 336N/312K e 462N/429K. Quanto à taxa de assimilação de CO_2 (A), verificou-se no sorgo sacarino maiores taxas fotossintéticas com as combinações 210N/429K. As combinações de doses de 28N/429K e 336N/117K apresentaram maior eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i). A massa seca das folhas contabilizadas para a área foliar foi inferior àquela obtida no tratamento da combinação de dose de N e K de 210N/234K. Notou-se maior crescimento e desenvolvimento das plantas de sorgo sacarino com a combinação de doses de N e K de 336N/117K em termos de produção de biomassa.

Palavras-chave: Gramíneas. Elementos essenciais. Combustível. Fotossíntese.

ABSTRACT

CAMPOS, A. G. **Evaluation of state nutritional, photosynthetic ratio, biomass production in sorghum sweet submitted to nitrogen and potassium rates**. 2015. 70 p. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

The world population growth promotes the increase in demand a consumption of foods, fibres and energy, besides the need to save the natural resources. Among the plants researched, sweet sorghum demonstrated efficiency when using for nutrients and water and providing important feedstocks such as cellulose, ethanol, bioethanol and food in the way of sugars and flours. However, information from sweet sorghum crop management practices is still scarce, mainly concerning the mineral nutrition and fertilization. As the nutrients nitrogen and potassium the most required up by the plant of nitrogen combinations were nitrogen rates and potassium in sweet sorghum, hybrid BRS 506. It was set up a factorial scheme 5^2 incomplete, accounting thirteen combinations of nitrogen (N) and potassium (K). The respective doses of N: 28, 112, 210, 336 and 462 mg L^{-1} combined with K rates: 19.5, 117, 234, 312 and 429 mg L^{-1}. The experimental design was a randomized block with four replications. Throughout the experiment, major variables were: evaluated estimating chlorophyll content, the activity of nitrate reductase, leaf CO_2 assimilation rate, instantaneous carboxylation efficiency, accumulation N and K, root development and dry mass production of the plant. The findings were analyzed statistically using the SAS statistical software and graphics by surface response design and mean comparison. The results demonstrated increased in the SPAD index with growth of sweet sorghum in all treatments, but the highest activities of nitrate reductase were found in plants of 112N / 112N and 117K / 312K treatments. The largest production of biomass, leaf area and Nitrogen accumulation of in the shoot and roots were found in the combination of doses 336N and 117K. For K the greatest quantities are accumulated on the stem, with the combinations of doses of 336N / 117K, 336N / 462N and 312K/429K. As to CO_2 assimilation rate observed on the sweet sorghum higher photosynthetic rates with 210N / 429K combinations. The combinations of doses of 28 N / 429K and 336N / 117K had higher instantaneous carboxylation efficiency. The dry mass of the leaf area was less than 83% compared with that of control treatments. In growth and development of sweet sorghum plant to 336N and 117K combination provided better results in terms of the biomass productivity.

Keywords: Grasses. Essential elements. Fuel. Photosynthesis.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 15
2. REVISÃO DA LITERATURA 17
2.1 Sorgo sacarino 17
2.2 Nitrogênio 19
2.3 Potássio 22
2.4 Combinações de N e K nas plantas 24
2.5 Atividade fotossintética e eficiência da carboxilação 25
3. MATERIAL E MÉTODOS 28
3.1 Limpeza das sementes 28
3.2 Semeadura e emergência das plântulas 28
3.3 Adaptação das plântulas às soluções nutritivas e realização do experimento 29
3.4 Determinação da atividade enzimática da nitrato redutase 33
3.5 Avaliação da taxa de assimilação de CO_2 35
3.6 Área foliar e área específica da folha 35
3.7 Comprimento e superfície total de raízes 36
3.8 Determinação das concentrações de N e K no tecido vegetal 36
3.9 Análises estatísticas 39
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 40
4.1 Análise multivariada 40
4.2 Acúmulo de N no sorgo sacarino 44
4.3 Acúmulo de K no sorgo sacarino 46
4.4 Atividade da enzima redutase do nitrato 48
4.5 Determinação indireta do teor de clorofila (em valores SPAD) 49
4.6 Assimilação de CO_2, carbono interno e eficiência instantânea da carboxilação 51
4.7 Área foliar, massa seca das folhas da área foliar e área foliar específica 53
4.8 Comprimento total e superfície total de raízes 55
4.9 Produção de biomassa da parte aérea e das raízes 56
5. CONCLUSÃO 60
REFERÊNCIAS 61
ANEXOS 66

1 INTRODUÇÃO

O crescimento da população mundial promove o aumento na demanda por consumo de alimentos e energia, mas diante do cenário socioambiental e econômica necessidades torna-se sustentável o cultivo e manejo de espécies vegetais que adaptam as condições edafoclimáticas local e possuam metabolismo eficientes quanto ao uso de água e nutrientes.

A produção de sorgo no Brasil geralmente é destinado para uso em ração animal e forragens, sendo pouco conhecido como alimento humano, visto que pode ser substitutos de derivados da cana-de-açúcar e trigo.

A produtividade da planta está associada principalmente a processos fotossintéticos que envolvem a anatomia e a fisiologia, porém, a disponibilidade dos nutrientes são fatores que refletem em aumento de biomassa, sendo os nutrientes nitrogênio (N), potássio (K) e fósforo (P) os mais exigidos, porém, as informações de práticas de manejo são escassas, principalmente quanto à nutrição mineral e adubação.

O adequado suprimento de N contribui para o aumento da biomassa e de conteúdo de açúcares, todavia, para o maior aproveitamento de N via metabolismo celular o suprimento de potássio (K) é fundamental, pelo seu papel em diversos processos na manutenção da vida da planta, devido ao fluxo de íon hidrogênio (H^+) na membrana dos tilacóides dos cloroplastos que funciona como contra-íon neutralizando as cargas negativas de proteínas e ácidos nucleícos, o transporte dos fotoassimilados, o controle do potencial de água na célula, a abertura e fechamento dos estômatos foliares da planta, atuando como cofator de diversas reações enzimáticas específicas, dentre outros processos vitais.

A estimativa da produção de sorgo na safra 2015/ 2016 no mundo é 1,25% maior que a safra anterior, sendo que os Estados Unidos são os maiores produtores prevendo uma safra em torno de 11.000.000 toneladas, enquanto o Brasil a estimativa é de 2.000.000 toneladas (USDA, 2013). Adicionalmente, a recentemente necessidade de reduzir a dependência de energia elétrica proveniente de fontes não renováveis, o sorgo é visto com potencial para complementar o setor energético em vários países, principalmente no Brasil, durante a entressafra da cana-de-açúcar.

Diante deste cenário, pesquisas agronômicas e de melhoramento genético estão sendo realizadas para melhorar a produtividade da planta, seja para a produção de grãos, biomassa ou açúcares. Com base na hipótese de que há uma melhor relação entre K e N na planta para a otimização da eficiência do uso de ambos os nutrientes para o aumento da produção de

biomassa, objetivou-se avaliar a interação de N e K principalmente quanto à eficiência de assimilação de CO_2, na abertura e fechamentos dos estômatos, eficiência do uso da água e nos acúmulos dos respectivos nutrientes na raiz, caule, folhas e grãos, assim como na produção de biomassa seca da planta.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sorgo sacarino

O *Sorghum bicolor* (L.) Moench é pouco conhecido no Brasil, no entanto, possui grande potencial como fonte de energia renovável, pois apresenta capacidade fisiológica para obter alto rendimento de biomassa devido a alta capacidade do fotossistema da planta. A cultura de sorgo é considerada adaptável a várias condições ambientais, inclusive em regiões que apresentam baixa precipitação pluviométrica e baixa fertilidade do solo (UCHINO et al., 2013).

Apesar da característica de rusticidade o sorgo pode apresentar exigência nutricional, sobretudo em situações de alta produtividade de biomassa, sendo que a colheita da planta inteira promove intensa exportação de nutrientes das áreas de cultivo, principalmente de nitrogênio (N) e potássio (K) (RESENDE et al., 2009).

Os Estados Unidos são pioneiros na produção de sorgo, prevendo uma safra em torno de 15.000.000 toneladas, enquanto o Brasil a estimativa é de 2.000.000 de toneladas (USDA, 2015). A menor produção de sorgo no país é devido à falta de apoio, incentivo e manejo inadequado quanto a adubação.

O sorgo sacarino comparado com o milho é mais eficiente no uso de água e N para produção de bioenergia, além disso, o sorgo pode aproveitar os grãos e açúcar(REGASSA; WORTMANN, 2014). O acúmulo de açúcares no colmo ocorre após o florescimento da planta que é em torno de 71 dias (MAY et al., 2013).

O ciclo do desenvolvimento do sorgo sacarino é dividido em três fases: vegetativa, reprodutiva e o período de maturação dos grãos. A fase vegetativa (EC1) corresponde ao período de emergência da plântula e crescimento até atingir a iniciação da formação da panícula. O estágio de crescimento (EC2) é o período entre a iniciação da panícula até o florescimento e a última fase (EC3) do florescimento até a maturação fisiológica (CASTRO; KLUGE; SESTARI, 2008). Quando o meristema apical se diferencia em meristema floral, indica a estabilização do crescimento vegetativo. A partir desta fase as células crescem em número e tamanho, coincidindo com maior absorção de nutrientes e acúmulo de matéria seca (FRANCO, 2011). Na Figura 1 observa-se o crescimento e desenvolvimento do sorgo até a maturação dos grãos.

E.C1 E.C2 E.C3

Figura 1 - Estádio fenológico do sorgo sacarino até a maturação dos grãos

Adaptado: Du Plessis, 2008.

O estádio fenológico do sorgo sacarino foi descrito detalhadamente por Magalhães, Durães e Schaffert (2000) em nove estádios apresentados a seguir:

- **Estádio 0:** Período que corresponde a semeadura até o surgimento do coleóptilo na superfície do substrato, que varia de 4 a 10 dias dependendo das condições ambientais.
- **Estádio 1:** Aos 10 dias após a emergência, torna-se visível a lígula/ colar ou cartucho da 3ª folha.
- **Estádio 2:** Três semanas após a emergência, torna-se visível a lígula/ colar da 5ª folha e durante os 30 dias após a emergência o crescimento é lento.
- **Estádio 3:** Após 30 dias de emergência da planta, ocorre diferenciação do ponto de crescimento passando do crescimento vegetativo para o reprodutivo. Nesse período inicia o alongamento rápido do colmo, quando aproximadamente sete a dez folhas estão completamente desenvolvidas, nesta fase o crescimento e a acumulação da matéria seca são rápidos e quase lineares, até a maturação.
- **Estádio 4:** Ocorre o rápido alongamento do colmo e todas as folhas estão completamente desenvolvidas com exceção das últimas folhas.

- **Estádio 5:** Neste estádio, todas as folhas estão completamente desenvolvidas resultando a máxima área foliar. A panícula alcança o comprimento máximo dentro da bainha da folha bandeira, inicia o processo de emborrachamento.
- **Estádio 6:** Após aproximadamente 60 dias de emergência da planta, inicia 50% da fase de floração.
- **Estádio 7:** Após 70 dias de emergência, 50% da matéria seca dos grãos foram acumulados e o peso do colmo diminui.
- **Estádio 8:** Cerca de ¾ de matéria seca dos grãos aos 85 dias após emergência foram acumulados.
- **Estádio 9:** 95 dias após a emergência da planta, os grãos estão com 22 a 23% de umidade.

Apresenta em geral, ciclo de 120 a 130 dias, colmo com alto teor de açúcares, boa produção de grãos e de silagem com alto padrão fermentativo (MAGALHÃES; DURÃES; RODRIGUES, 2000).

O sorgo sacarino carece de informações quanto à exigência nutricional adequada para cada estádios e a sua eficiência na produtividade, uma vez, que o crescimento é consequência do acúmulo de água e de matéria seca. Neste sentido, são poucos os trabalhos relacionados com o manejo cultural do sorgo sacarino, principalmente no Brasil (FONSECA et al., 2008; MAY et al., 2013).

A maior atividade metabólica do sorgo sacarino ocorre na iniciação da panícula até o florescimento (EC2 e EC3) consumindo mais fotossimilados e elevando a taxa fotossintética para satisfazer os órgãos reprodutivos em crescimento (MAGALHÃES; DURÃES, 2003).

2.2 Nitrogênio

A cultura de sorgo apesar de eficiente no processo metabólico perde para as culturas de cana-de-açúcar e milho devido à inadequada aplicação de quantidades de adubos nitrogenados (SANTOS et al., 2014). O conhecimento da estimativa da demanda de N e as condições cultivadas contribui na aplicação eficiente do nutriente (UCHINO et al., 2013). Porém, no Brasil o sorgo mesmo com a fisiologia e metabolismo eficientes apresentam baixo

retorno em termos de rentabilidade, principalmente quanto à aplicação da adubação nitrogenada e a produção (SANTOS et al., 2014).

Em geral, as gramíneas C-4 apresentam alta eficiência de utilização do N em termos de produção de matéria seca havendo correlação positiva entre o teor de N na folha e a taxa de fotossíntese. (SILVEIRA, 1980).

A determinação do teor de N no tecido vegetal é usualmente realizada pela metodologia de semi- Kjeldahl (destrutiva) e SPAD (não destrutiva). As vantagens de determinar o N pelo método de Kjeldahl é a quantificação do N total na planta incluindo as proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos entre outras para a manutenção da planta (MUNÕZ-HUERTA et al., 2013).

Atualmente, a diagnose de N com o clorofilômetro SPAD demonstrou ser bastante viável , pois a maior parte do N absorvido pela planta é incorporado pela clorofila localizada nas folhas e esta prática já é aplicada em culturas como milho, trigo e arroz (UCHINO et al., 2013).

O clorofilômetro *Chlorophyll Meter* - 502 (SPAD) fornece o teor indireto de clorofila o qual é correlacionado com o teor de N nas folhas (PRADO et al., 2008) sendo importante para o estudo nutricional de N e atividade fotossintética. A luz emitida pelo aparelho atravessa o tecido foliar e o receptor quantifica a luz absorvida pela folha (intensidade de cor verde) convertendo em unidade SPAD (AMARANTE et al., 2010).

Pesquisas evidenciaram que o índice SPAD obtido em folhas de sorgo correlacionam com os teores de N variando o r entre 0,89 a 0,98 (MARANVILLE; MADHAVAN, 2002). Todavia, a desvantagem do SPAD é a baixa sensibilidade de detectar o índice SPAD em estádio fenológico inicial (MUNÕZ-HUERTA et al., 2013).

Porém, a leitura SPAD permite diagnosticar indiretamente a produção de massa seca e o acúmulo de nitrogênio da parte aérea, pois o fornecimento das maiores doses de N pode aumentar a unidade SPAD e prever maior produção de massa seca da parte aérea (VIANA; KIEHL, 2010).

O N é mais assimilado e acumulado na forma de nitrato (NO_3^-) na parte aérea, principalmente quando absorvido em excesso pela planta, o qual não é possível quantificar por não associar a molécula de clorofila (PRADO et al., 2008). A assimilação de NO_3^- depende do metabolismo do carbono e da quantidade de NO_3^- nos vacúolos influenciando no teor de carboidrato.

A atuação da enzima nitrato redutase é fundamental na incorporação de nitrogênio inorgânico (Ni) em moléculas orgânicas complexas, sendo a etapa limitante nesse processo. A redução do nitrato a aminoácidos depende da atividade da fotossíntese e da respiração, pois a expressão do gene e a atividade da enzima aumentam com a concentração de NO_3^-, intensidade luminosa ou níveis de carboidratos (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

A alta atividade da enzima redutase do nitrato indica maior capacidade na assimilação do NO_3 disponível e assim, responsiva à adubação nitrogenada resultando em maior produtividade das culturas (VIANA; KIEHL, 2010).

A alta concentração de CO_2 inibe a assimilação de NO_3^- devido a baixa disponibilidade de NADPH ocorrido pela diminuição do fluxo de malato em consequência da competição entre a fixação de carbono e a redução de nitrito ocasionada pelo impedimento de NO_2 para o cloroplasto (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

O fluxo catalítico do nitrato redutase ou a capacidade total de redução do nitrato pelas plantas depende da presença do substrato e da disponibilidade de cofatores e íons metálicos, FAD, heme, Fe, Mo-MPT (molibdênio – molibdopterina) afirma Campbell (1999). Estudos indicam que a enzima redutase do nitrato encontra-se na membrana do cloroplasto ou no plasma da célula (DEY; HARBORNE, 1997).

O nitrato é reduzido a nitrito via enzima redutase do nitrato, conforme a reação a seguir:

$$NO_3^- + 2H^+ + 2 \text{ elétrons} \rightarrow NO_2^- + H_2O$$

O N absorvido durante a fase vegetativa é destinado para o crescimento vegetativo e desenvolvimento dos órgãos reprodutivos e transportado para a síntese de proteínas dos grãos. Ressaltando que ouso eficiente de N pode aumentar a concentração de tecidos e consequentemente da biomassa de sorgo (MARANVILLE; MADHAVAN, 2002).

A taxa de suprimento de nutrientes e não a sua concentração é o fator importante para o fornecimento de fertilizantes nitrogenados (EPSTEIN; BLOOM, 2006). Assim, plantas deficientes de N apresentam baixa concentração e produção de sacarose e açúcares redutores totais, além de redução no crescimento da planta como um todo, em termos de acúmulo de matéria seca (SILVEIRA, 1980).

Estudos realizados em casa de vegetação por Maranville e Madhavan (2002) demonstraram forte correlação na deficiência de N com a eficiência fotossintética com quatro híbridos em condições de alta e baixa concentração de N.

A deficiência de N reduz a divisão celular e a extensão foliar devido à inadequada síntese proteica. Por outro lado, o excesso de N prolonga o período de crescimento e consequentemente, o atraso na maturação da cultura de milho (AMANULLAH et al., 2007).

A área foliar específica é a relação da área foliar da planta com a massa foliar da planta, senda qual aumenta com a elevação no fornecimento de N em milho (AMANULLAH et al., 2007) No sorgo a maior área foliar obteve baixa concentração de N apresentando característica que levam a deduzir que possui alta eficiência no uso de N (GARDNER; MARANVILLE; PAPAROZZI, 1994).

A deficiência de N acelera o estádio reprodutivo da planta, porém o rendimento é reduzido, em alguns cereais o nível de proteínas são abaixo do normal e o nível de amido, açúcar e outros carboidratos são aumentados (BERGMANN, 1992).

A incorporação da assimilação de CO_2 e o metabolismo de N promove alto rendimentos (MAGALHÃES; DURÃES; SHAFERTT, 2000), sendo, portanto o uso do analisador de gás infravermelho um dos meios para diagnosticar esses importantes processos.

2.3 Potássio

O potássio (K) possui participação nos processos fisiológicos que estão envolvidos no crescimento, na produtividade da planta e na qualidade das culturas agrícolas (ZORB; SENBAYRAM; PEITER, 2013).

A alta concentração de K promove aumento na concentração de ácidos orgânicos beneficiando o nível de ácido ascórbico (BERGMANN, 1992). O cátion K^+ facilita o transporte do NO_3^- da raiz para o caule (MENGEL; KIRKBY, 2001) sendo que altas taxas de absorção de NO_3^- concorrem para um maior acúmulo de K, Mg e Ca que são absorvidos como contra-íons (SILVEIRA, 1980).

Na deficiência de K, a mobilidade de fotoassimilados é baixa acumulando nas folhas como a sacarose, em geral, não promovendo o rápido desenvolvimento da raiz para tentar suprir a carência de K no metabolismo da planta (ZORB; SENBAYRAM; PEITER, 2013) e a síntese de matéria orgânica é reduzida.

O fornecimento adequado de K eleva a taxa fotossintética, os íons de K acumulados nas folhas participam na conversão de energia e os fotoassimilados são removidos rapidamente (BERGMANN, 1992).

Assim, o K estimula a ATPase no processo de desfosforilação nos cloroplastos (MENGEL; KIRKBY, 2001). No caso de deficiência de K na planta o processo de assimilação de CO_2 reduz o esqueleto de carbono e provoca nas raízes novas a liberação de metabólitos como o NO_3^- e aminoácidos do xilema (AMTMANN; RUBIO, 2012).

E a redistribuição do K com os fotoassimilados são direcionado para os tecidos jovens do vegetal (ZORB; SENBAYRAM; PEITER, 2013).

As raízes de algumas plantas possuem morfologia e anatomia para a regulação e transporte cinético que podem neutralizar fisicamente aumentando o comprimento do sistema radicular e liberando substâncias gelatinosas que na presença da água forma a mucilagem em torno da raiz para absorver o K (ZORB; SENBAYRAM; PEITER, 2013).

A limitação causada pelo aumento de açúcares e a queda do piruvato na planta faz com que ocorra um efeito reverso na raiz , assim, para suprir a deficiência de K as raízes estão adaptadas com metabolitos e atividades das enzimas ativas (AMTMANN; RUBIO, 2012).

A acumulação de K é um pré-requisito do potencial osmótico (ZORB; SENBAYRAM; PEITER, 2013), porém o excesso de K pode induzir a deficiência de Ca e inibir a absorção de boro (B), zinco (Zn), magnésio (Mg) e amônio (NH_4) (BERGMANN, 1992). O excesso relativo de Ca e de Mg no substrato diminui a absorção do K e do Mg; é possível ainda que o íon amoniacal diminua a absorção do K (MALAVOLTA et al., 1976).

É comum expressar o teor de K nas plantas com a porcentagem de massa seca, mas a diferente absorção de K entre as plantas está atribuída à estrutura, comprimento e densidade radicular (ZORB; SENBAYRAM; PEITER, 2013).

Além disso, o nível de K na planta determina o perfil e a distribuição dos metabólitos primários, sendo que a deficiência de K pode aumentar a quantidade de açúcares solúveis na planta e inibir a atividade de duas enzimas essenciais: assimilação de CO_2 e carboxilase (AMTMANN; RUBIO, 2012). E consequentemente a baixa concentração de CO_2 na atividade da fotossíntese conduz ao aumento de espécies reativas ao oxigênio (ROS) inibindo a fixação de carbono (ZORB; SENBAYRAM; PEITER, 2013).

2.4 Combinações de N e K nas plantas

Os cultivares de sorgo sacarino Brandes e Rio apresentaram elevada exigência em N e K (ROSOLEM; MALAVOLTA; MACHADO, 1980). Porém, estudos abordando as combinações de doses de N e K específica para sorgo sacarino ainda são escassos na literatura.

Quando os nutrientes são fornecidos combinados podem resultar em efeitos diferentes que os obtido individualmente, por isso, é importante o estudo da interação entre esses elementos (FOX; LOWER; WANER, 1980).

Considerando o metabolismo do sorgo eficiente no uso dos nutrientes para obter maior produtividade, Coelho et al. (2002) inclui no programa de adubação de sorgo importantes parâmetros, entre eles: a exigência nutricional, a absorção e a acumulação de N e K.

O fornecimento do N e K combinados na cultura de trigo promovem incrementos na produção de massa seca e na concentração de N e K na parte aérea da planta (VIANA; KIEHL, 2010).

O metabolismo das enzimas do N depende do cátion K , assim como para transportar nitrato e aminoácidos (AMTMANN; RUBIO, 2012).

Para avaliação nutricional do sorgo, em geral, é utilizada a folha localizada na posição mediana do colmo, e coletada quando a planta encontra-se no estádio fisiológico de emborrachamento. Isso se deve ao potencial crescimento e armazenamento dos órgãos vegetativos que atingem seu ponto máximo, além da necessidade nutricional ser maior. Vale ressaltar que a disponibilidade de nutrientes deve estar de acordo com a finalidade de exploração: grãos, forragem ou açúcares e, principalmente, as formas de absorção e acúmulo de N e K (COELHO et al., 2002).

Em pesquisa avaliando 140.000 plantas de sorgo sacarino verificou-se maior extração de N (127 kg ha^{-1}) e de K (118 kg ha^{-1}) em relação aos demais nutrientes estudados (NASCIMENTO et al., 1988).

Na cana-de-açúcar os elementos N e K são fundamentais para melhorar o desempenho fisiológico e a produção de açúcares. Os altos níveis de K na planta provocam aumento na concentração e na produção total de sacarose. Por outro lado, altos níveis de N provocam diminuição da sacarose. O N e o K estão fortemente relacionados, principalmente em plantas que utilizam açúcares como material de reserva (SILVEIRA, 1980).

O acúmulo de K durante o ciclo do milho, por exemplo, é linear e a quantidade total de K contida na planta é quase a metade da encontrada aos 60 dias após a germinação (MALAVOLTA et al., 1976).

O fornecimento do K para as plantas estimula o aproveitamento do N, possibilitando que sua absorção, assimilação, nutrição e, consequentemente, a produtividade, sejam aumentadas assim como a massa seca no caso do trigo, principalmente quando fornecido em altas doses de N e K (VIANA; KIEHL, 2010).

O acúmulo de K nas plantas depende da disponibilidade de N, conforme Zhao et al (2005) em seus experimentos verificou alta relação entre a exportação de K em sorgo de forragem e aveia preta com adubação nitrogenada.

O N absorvido durante a fase vegetativa do milho é destinada para o crescimento vegetativo e desenvolvimento dos órgãos reprodutivos é transportado para a síntese de proteínas dos grãos (AMANULLAH et al., 2007).

2.5 Atividade fotossintética e eficiência da carboxilação

O sorgo é entre as culturas do tipo C4 mais eficiente no sistema fotossintético que o milho e a cana-de-açúcar, pois fixa o carbono via malato (KARP, 2005).

A diferenciação do parênquima foliar possibilita alta produtividade de plantas C4, devido às células do mesófilo externa e interna juntamente com as células da bainha do feixe atuarem na bioquímica do mecanismo de concentração do carbono no aumento da concentração de CO_2 na bainha do feixe. Neste compartimento celular a Rubisco é exclusivamente expressada resultando na supressão ativa da oxigenase na atividade da rubisco. Na conexão via plasmodesmata da bainha do feixe com as células do mesófilo na retrodifusão alguns CO_2 absorvidos pela planta são escapados, mas a quantidade varia entre as espécies e comportamento individual da planta (BELLASIO; GRIFFITHS, 2014).

As plantas de via fotossintética de quatro carbono (C4) como o sorgo apresenta vantagens por bombear das células do mesófilo para as células da bainha vascular o CO_2 fixado mantendo alta a relação CO_2:O_2 a qual favorece a carboxilação da ribulose 1,5-bisfosfato (RUBP). Assim a taxa fotossintética pode ser maior que a comparada com a via de três carbonos (C3).

A fotossíntese depende de vários fatores: dos processos fisiológico e bioquímico, condutância estomática, concentração intercelular de CO_2, fotossistema II, atividades das enzimas fixadoras de carbono (ZHAO et al., 2005).

A fixação de carbono (C) na forma de oxaloacetato independe da luz e a reação desloca-se das células do mesófilo para as células da bainha vascular da folha produzindo o CO_2 hidratado (HCO_3^-) e o piruvato. O CO_2 hidratado pela fosfoenolpiruvato carboxilase entra no ciclo de Calvin reagindo com a RUBP para formar duas moléculas de 3-fosfoglicerato (PGA) e outras moléculas intermediárias do ciclo. Ao mesmo tempo, o piruvato retorna as células do mesófilo reagindo com o ATP para formar outra molécula de fosfoenolpiruvato (PEP) (KARP, 2005).

A síntese de fosfoenolpiruvato consome 10% de N e a rubisco entre 10 a 25% de N em plantas via C4, enquanto a síntese da rubisco em plantas do tipo C3 é superior a 50% o consumo de N (VIEIRA et al., 2010).

Maranville e Madhavan (2002) constataram em sorgo que a eficiência fotossintética depende da atividade da fosfoenolpiruvato carboxilase (PEP carboxilase).

A carboxilação primária ocorre pela enzima fosfoenolpiruvato carboxilase. O carbono do CO_2 assimilado pela fotossíntese possui dois destinos, acumular nos cloroplastos na forma de amido ou convertido no citoplasma na forma de sacarose e exportado das células fotossintéticas para o floema transportando para meristemas e órgãos em desenvolvimento tais como folhas jovens, flores, frutos e sementes (TAIZ; ZEIGER, 2010).

A deficiência de N reduz a condutância estomática e por sua vez a concentração intercelular de CO_2 resultando em baixa atividade fotossintética (ZHAO et al., 2005). A baixa acumulação de massa seca de sorgo está associado com a carência de N na planta afetando também a atividade mesofílica (ZHAO et al., 2005).

As taxas de fotossíntese das folhas para sorgo variam de 30 a 100 mg CO_2 dm^{-2} h^{-1}, dependendo do material genético, intensidade de luz fisiologicamente ativa e da idade das folhas (MAGALHÃES; DURÃES, 2003).

A concentração de sacarose no citossol da folha depende da fotossíntese e exportação de carbono das folhas para demanda de energia e síntese de polissacarídeos para outros tecidos (TAIZ; ZEIGER, 2010). O provável mecanismo envolvido no mecanismo de N e de carbono é a fotossíntese (MARANVILLE; MADHAVAN, 2002).

Aproximadamente 90% da massa seca acumulada pelas plantas resultam da atividade fotossintética, os outros 10% são os nutrientes absorvidos (CAIRO; OLIVEIRA; MESQUITA, 2008).

A razão de área foliar, o índice de área foliar e a área foliar específica são parâmetros importantes para estimar a atividade fotossintética e o acúmulo de massa seca (AMANULLAH et al., 2007). Considera-se área foliar fotossinteticamente útil às folhas completamente expandidas e expostas a radiação luminosa (CAIRO; OLIVEIRA; MESQUITA, 2008).

Há evidências de que as enzimas carboxilantes estão vinculadas com a produção de biomassa no sorgo, e a atividade da enzima Rubisco declina quando o sorgo está deficiente em N (MARANVILLE; MADHAVAN, 2002).

Em folhas de sorgo os estômatos são pequenos possibilitando quantidades maiores por unidades de área, estima-se que seja 50% a mais de estômatos por unidade de área foliar comparado com a planta milho (MAGALHÃES et al., 2003). Para Magalhães et al. (2000) o sorgo sacarino é excelente fonte de carboidratos, mas é necessário aumentar o rendimento da planta.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em condições de casa de vegetação localizada em Piracicaba, SP, no período de 03 de fevereiro a 27 de abril correspondendo às épocas de verão e outono de 2014, em que as temperaturas máxima, mínima e média foram respectivamente: 38,6; 18,2 e 26,4°C.

Os tratamentos com combinações de nitrogênio (N) e potássio (K) foram aplicados na espécie *Sorghum bicolor* (L.) Moench, híbrido BRS 506 da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG. Adotou-se os critérios estabelecidos pela Embrapa Milho e Sorgo (2008) referente ao ciclo fenológico da cultura, quanto às avaliações empregadas neste estudo.

3.1 Limpeza das sementes

As sementes foram lavadas com água corrente, solução de água sanitária 10% e água deionizada, sendo posteriormente secas em estufa de circulação forçada, a 65ºC. Em seguida as sementes foram moídas em moinho *Willey* e pesadas para o preparo dos extratos sulfúrico e nítrico-perclórico para determinação de nitrogênio (N) e potássio (K), respectivamente, trabalhando-se com quatro repetições.

3.2 Semeadura e emergência das plântulas

As sementes foram lavadas conforme descrito no item anterior e imersa por 15 minutos em água deionizada. Para a germinação, as sementes foram colocadas em bandejas plásticas rasas contendo vermiculita, de textura média, umedecida com solução de sulfato de cálcio ($CaSO_4$) 10^{-4} mol L^{-1} para estímulo do desenvolvimento e crescimento radicular. As sementes foram distribuídas no substrato, e mantido úmido por meio da adição de água deionizada durante sete dias.

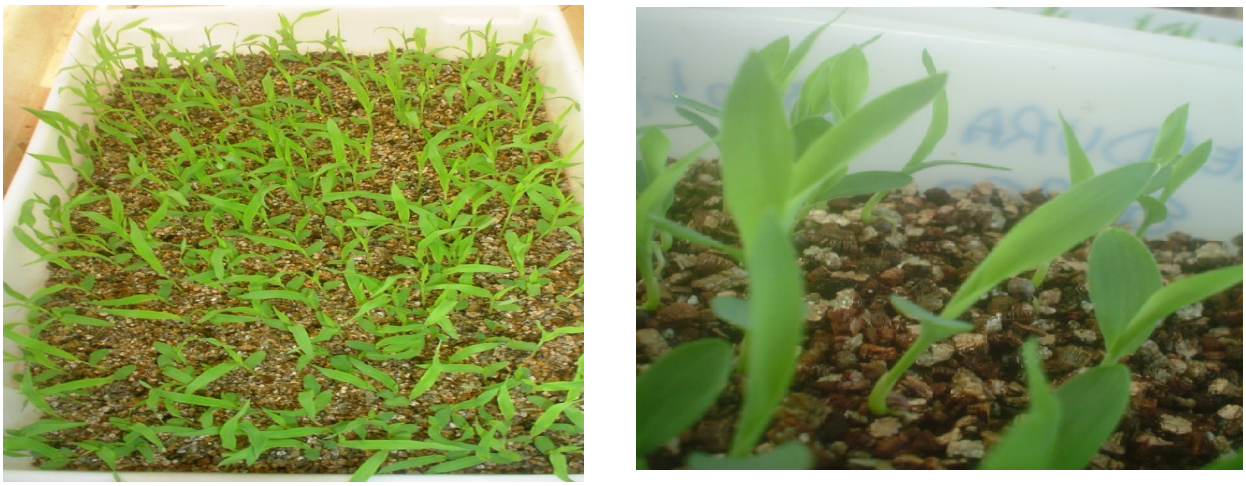


Figura 2 - Plântulas de sorgo sacarino BRS 506 após três dias da germinação, estádio fenológico EC1.

3.3 Adaptação das plântulas às soluções nutritivas e realização do experimento

As plântulas com aproximadamente 6,0 cm de altura, correspondendo ao estádio fenológico EC1, foram transferidas para bandeja de 40L com solução nutritiva completa de Sarruge (1975) diluída a 1/5 da concentração usual, evitando-se possível estresse salino. A solução de micronutrientes foi modificada apenas para a dose de Fe, visto que houve necessidade de triplicar a dose recomendada, além do fornecimento contínuo de aeração de modo a evitar possíveis sintomas visuais de deficiência de Fe. As plântulas permaneceram nesta solução durante dez dias.

Figura 3 - As plântulas de sorgo na terceira fase do EC1 permaneceram por 10 dias na solução completa diluída a 1/5.

As plântulas foram retiradas das bandejas de 40L, aos dez dias após emergência, estádio fenológico EC1 e lavadas com água deionizada e transferidas para os vasos com os respectivos tratamentos das combinações de doses de N e K na solução nutritiva (Tabela 1). As plântulas foram selecionadas contendo aproximadamente a mesma altura e quantidade de folhas e colocadas nos vasos aleatoriamente. O experimento iniciou-se com as plântulas contendo três folhas.

Foi empregado o desenho experimental composto central modificado de um esquema fatorial 5² incompleto, fundamentado em Littell e Mott (1975), com as doses de N e de K, perfazendo um total de 13 combinações (28N e 19,5K; 28N e 234K; 28N e 429K; 112N e 117K; 112N e 312K; 210N e 19,5K; 210N e 234K; 210N e 429K; 336N e 117K; 336N e 312K; 462N e 19,5K; 462N e 234K; 462N e 429K), as quais foram distribuídas segundo o delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro repetições (LAVRES JUNIOR; MONTEIRO, 2003). Manteve-se constante a relação nitrato: amônio em 1,8 (64,4% NO_3^- e 35,6% NH_4^+) de acordo com Lavres Junior (2001).

Tabela 1- Volume das soluções estoque empregado no preparo das soluções nutritivas para as doses de N e K

	Combinações de doses de nitrogênio e potássio												
	28N 19,5 K	28N 234K	28N 429K	112N 117K	112N 312K	210N 19,5K	210N 234K	210 N 429K	336N 117K	336N 312K	462N 19,5K	462N 234K	462N 429K
Soluções Estoques	mL L^{-1}												
NH_4NO_3 (1 M)	0,22	0,72	0,72	2,86	2,86	4,84	5,34	5,34	8,54	8,54	11,25	11,75	11,75
$Ca(NO_3)_2$ (1 M)	0,54	0,29	0,29	1,14	1,14	2,41	2,16	2,16	3,46	3,46	5,0	4,75	4,75
KH_2PO_4 (1 M)	0,50	1,0	1,0	1,0	1,0	0,5	1,0	1,0	1,0	1,0	0,5	1,0	1,0
$NH_4H_2PO_4$ (0,5M)	1,0	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	1,0	-	-
$CaCl_2$ (1 M)	4,46	4,71	4,71	3,86	3,86	2,60	2,84	2,84	1,54	1,54	-	0,25	0,25
KCl (1 M)	-	5,0	10,0	2,0	7,0	-	5,0	10,0	2,0	7,0	-	5,0	10,0
$MgSO_4$ (1 M)	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Micro	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Fe-EDTA*	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0

*Composição da solução Fe-EDTA: 33,2g de etilenodiaminotetracético, 89,2 mL de hidróxido de sódio 1,0 N; 24,9g de sulfato de ferro pentahidratado.

Os vasos de plástico “tipo PP” de capacidade de 5,5 L foram cobertos com "tinta automotiva cor alumínio" para evitar o desenvolvimento de algas com a passagem da luz solar incidindo diretamente no vaso e, por sua vez, na solução nutritiva.

As plântulas foram fixadas nas tampas com espumas de poliuretano e mantidas eretas com auxílio de barbantes fixados no teto da casa de vegetação (Figura 4). A aeração constante foi fornecida via ar comprimido e o volume da solução nutritiva mantida constante adicionando água deionizada quando necessário. No decorrer do experimento foram realizadas a diagnose visual e o monitoramento a cada três dias dos valores de pH e da condutividade elétrica (CE) da solução nutritiva .

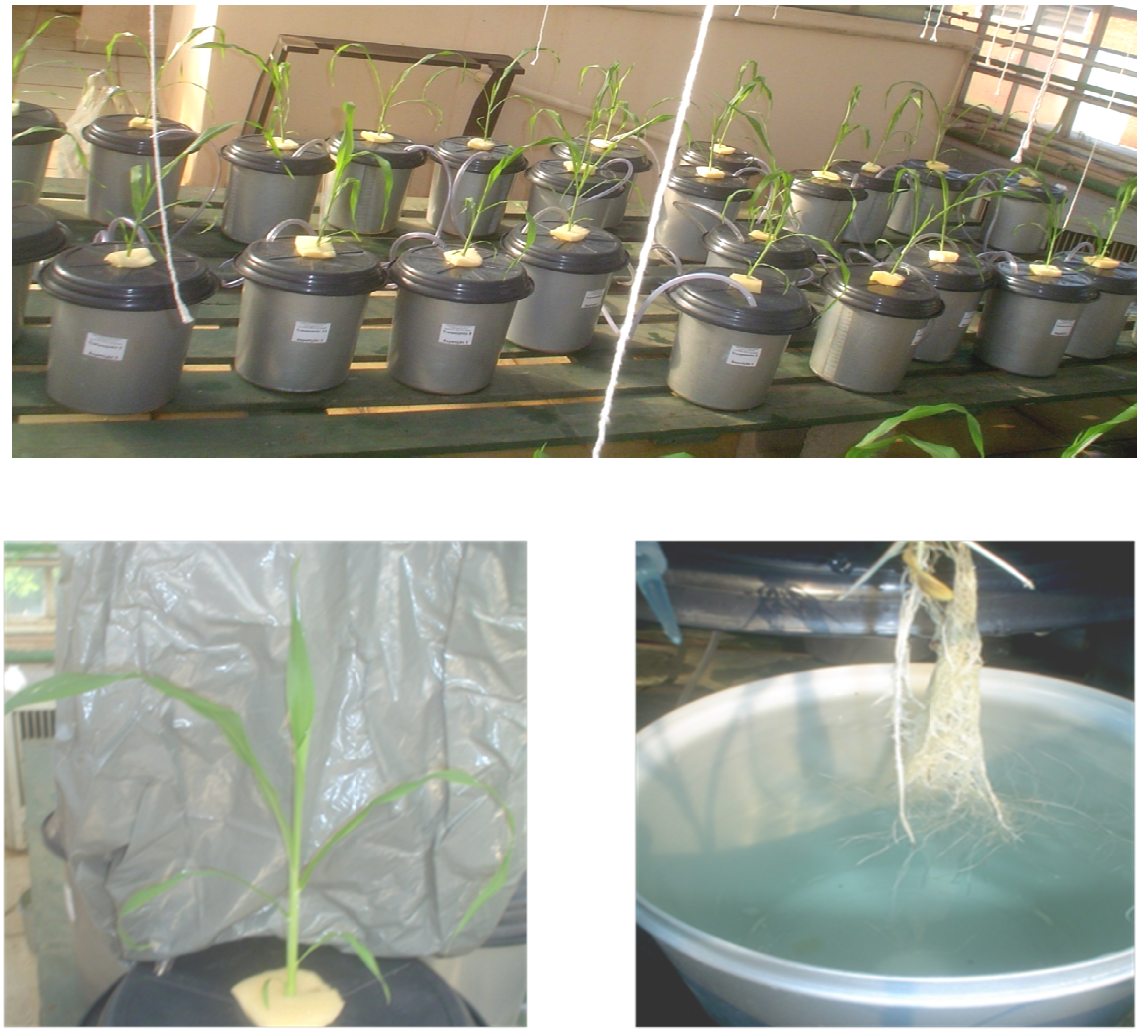


Figura 4 - Início do experimento com sorgo sacarino, híbrido, BRS 506, submetido às combinações de doses de N e K .

A atividade iônica da solução nutritiva foi monitorada com subamostras de aproximadamente 100 mL da solução nutritiva coletadas em frascos de vidro, os quais eram transportados para o laboratório procedendo-se em seguida a leitura do pH no peagâmetro digital de bancada, com variação de leitura entre 4,0 e 5,0. Em seguida realizava-se a leitura da C.E. no condutivímetro digital de bancada. A renovação das soluções nutritivas ocorreu em intervalos de 15 dias.

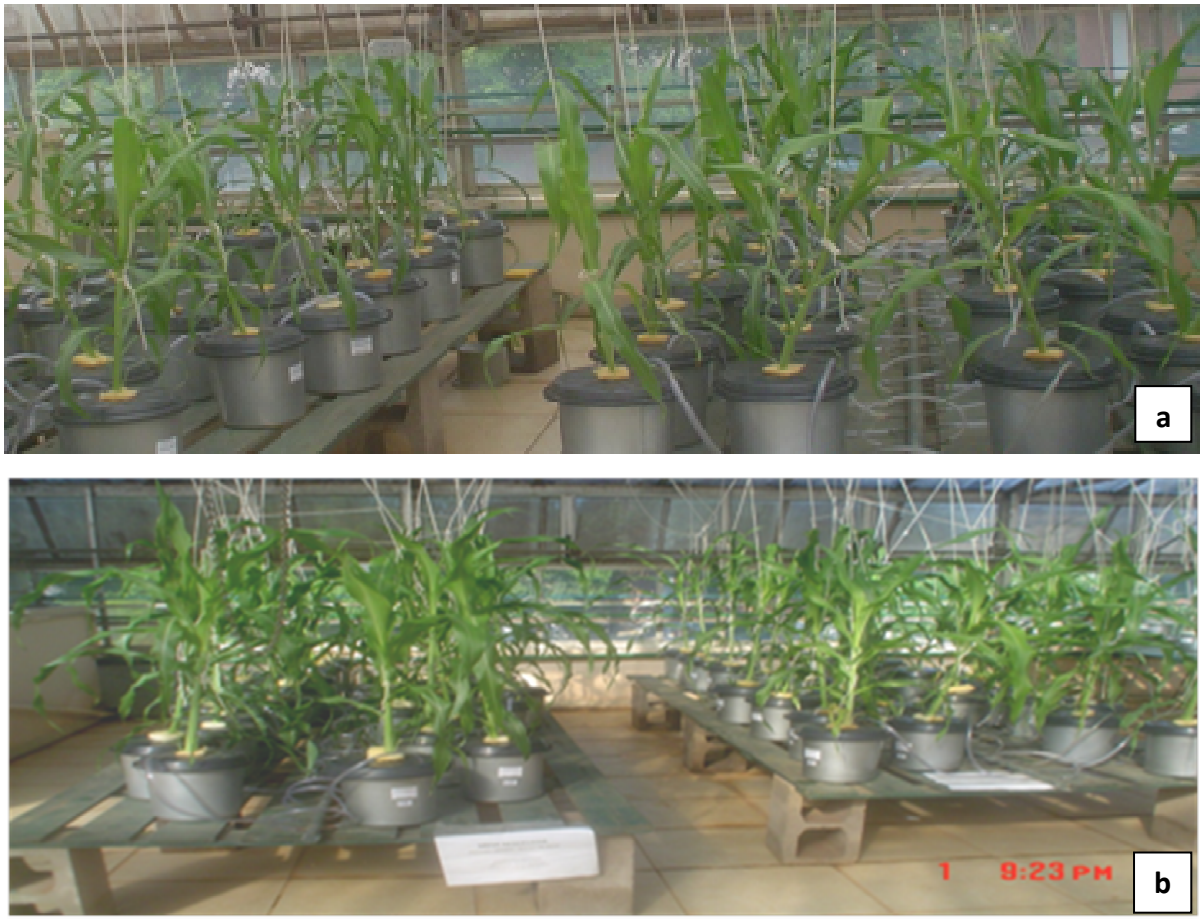


Figura 5 - Plantas de sorgo (a) após 21 dias do início dos tratamentos, em estádio fenológico EC1, (b) EC2 inicial com as combinações de N e K

As medidas biométricas (altura e diâmetro) das plantas (Figura 5) foram efetuadas semanalmente com o auxílio da trena e do paquímetro digital. A altura da parte aérea foi tomada a partir do colo da planta até o ápice caulinar e o diâmetro do caule foi medido a aproximadamente dois centímetros de distância do colo (Anexo A).

A determinação indireta do teor de clorofila, expresso em valores SPAD, foi realizada aos 38 (estádio fenológico EC1), 68 (EC2) e 78 dias (EC3) após emergência nas folhas +2 conforme Silva et al. (2012), por meio do uso do *Chlorophyll Meter SPAD-502* (MINOLTA CAMERA Co., 1989).

3.4 Determinação da atividade enzimática da nitrato redutase

Quando as plantas completaram 68 dias após início dos tratamentos (EC2), as folhas foram coletadas para determinação da atividade da redutase do nitrato, conforme procedimentos descritos por Uchino et al. (2013). Utilizaram-se também as folhas +2, das plantas de cada repetição para todos os tratamentos, coletadas no período das 7:00 as 8:00 horas e colocadas em sacos plásticos identificados e armazenadas em caixa de isopor com gelo e transportada para o laboratório. A metodologia aplicada foi de Mulder, Boxma e Van Venn (1959) e a leitura da absorbância foi efetuada no espectrofotômetro *Jenway 6305*®, em comprimento de onda de 540 nm (filtro verde).

A atividade enzimática de redutase do nitrato foi realizada pipetando-se 4,0 mL de KNO_3 0,25 M de solução tampão fosfato nos tubos e colocando-se 200 mg de folhas frescas em contato. Em seguida, as amostras foram envolvidos em papel alumínio e incubadas no banho-maria a 35°C, durante duas horas, sendo cuidadosamente agitada a cada 5 minutos. Após este período, foi pipetado 1,0 mL do extrato presente no tubo e transferido para balão volumétrico de 50 mL contendo 25 mL de água deionizada, quando se adicionou 1,0 mL de ácido sulfanílico, deixando em repouso por 10 minutos. Na sequência, foi pipetado 1,0 mL dos reagentes: alfanaftilamina e tampão acetato de sódio, sendo que o volume foi posteriormente completado com água deionizada para a realização da leitura.

Para o preparo da solução KNO_3 0,25 M em solução tampão fosfato dissolveram-se em água deionizada 7,0g de NaH_2PO_4 em balão volumétrico de 250 mL, posteriormente foi realizado o mesmo procedimento com 18 g de Na_2HPO_4 e a partir desta solução transferiram-se 202 mL no balão volumétrico de 500 mL e adicionaram-se 38 mL da solução de NaH_2PO_4, completando-se o volume com água deionizada e obtendo a solução tampão fosfato pH 7,4 para em seguida dissolver nesta solução 6,25g de KNO_3 em balão volumétrico de 250 mL (MULDER; BOXMA; VAN VENN, 1959).

Os cálculos foram realizados com base à reta-padrão, em que os pontos são apresentados a seguir:

Tabela 2 - Pontos da reta-padrão da atividade da enzima redutase de nitrato

Volume (mL)	[NO2] µg/mL	Absorbância
0	0	0,015
5	0,03284	0,041
10	0,06568	0,07
15	0,09852	0,100
20	0,13136	0,117
25	0,16420	0,151

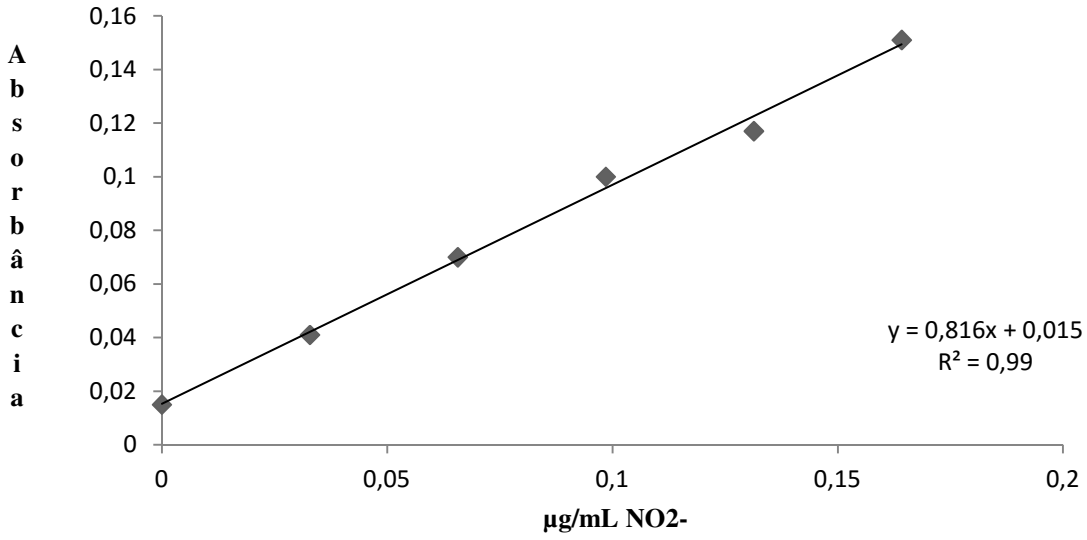


Figura 6 - Reta-padrão da concentração de nitrito na solução de trabalho, para cálculo da atividade da redutase de nitrato na folha

Para a obtenção da quantidade de NO_2^- por mililitro do extrato das amostras foi usada a equação (1) da regressão gerada a partir dos pontos da reta-padrão, apresentada a seguir:

$$\frac{\mu g NO2}{ml} = (\ abs. - 0{,}0153/0{,}8161) \quad \text{(equação 1)}$$

Sendo *abs.* = absorbância obtida na leitura da amostra.

3.5 Avaliação da taxa de assimilação de CO_2

Para a quantificação da taxa fotossintética e da eficiência da carboxilação, foram utilizados limbos das folhas expandidas (+3), localizados no terço médio das plantas, aos 54 dias após início dos tratamentos (estádio fenológico EC2), as quais são recomendadas para diagnose foliar (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997).

Foi utilizado o analisador de gás infravermelho (*LI- 6400XT, LI-COR, Lincoln NE, USA*), com a temperatura ajustada para 30°C. A luz foi fornecida por meio de *LEDs* que emitem na azul - vermelho do espectro, com intensidade de 1.600 µmol m^{-2} s^{-1}. Adicionalmente, a assimilação líquida de CO_2 (A) foi avaliada por meio do analisador Li- 6400XT sendo a concentração de CO_2 no ar de 400 µmol mol^{-1} (SOUZA et al., 2008; BARBOSA et al., 2015).

A estimativa da eficiência instantânea da carboxilação foi realizada por meio da relação da taxa fotossintética (*A*) pela concentração intercelular de CO_2 (*Ci*) da leitura da folha fornecida pelo *IRGA - LI- 6400XT*, conforme Silva et al. (2005) em estudos com genótipos de cana-de-açúcar, a qual possui fisiologia semelhante à planta de sorgo.

3.6 Área foliar e área foliar específica

A área foliar é o parâmetro que permite avaliar a capacidade da planta em aproveitar a atividade fotossintética, assim após 72 dias do início dos tratamentos (EC3), foram coletadas as folhas do caule de cada vasos para determinação da área foliar, por meio do sistema digital integrador de área (*Licor LI 3100*). Em seguida, os limbos foliares foram pesados e armazenadas em sacos de papel para secagem em estufa de circulação forçada. A área foliar por planta (cm^2) foi quantificada mediante o somatório da área foliar de cada limbo foliar da planta e adicionalmente, foram determinadas a área foliar específica e a razão de área foliar, conforme descrito em Amanullah et al. (2007).

$$AFE = \frac{Área\ foliar\ da\ planta}{Peso\ foliar\ da\ planta}\ (cm^2 g - {}^1)$$

Sendo AFE, área foliar específica

$$RAF = \frac{área\ foliar\ da\ planta}{Peso\ da\ planta}\ (cm^2 g{-}^1)$$

Sendo RAF= razão da área foliar

3.7 Comprimento e superfície total de raízes

O comprimento total e a superfície total de raízes foram obtidos a partir da subamostra de aproximadamente 20% de massa fresca total de raiz (LAVRES JUNIOR; MONTEIRO, 2003), de cada unidade experimental, lavadas e armazenadas na câmara fria em potes plásticos com água deionizada.

As determinações da área superficial, e do comprimento radicular foram efetuadas com o auxílio de *scanner XL* 10000, *Epson*® e do *software WhinRhizo*® (REGENT INSTRUMENTS CANADA INC., 2013). As subamostras foram distribuídas na bandeja acrílica com água deionizada de modo a evitar sobreposição da raiz. Os valores totais do comprimento e superfície radicular das plantas foram obtidos usando a regra matemática de três entre os valores da subamostra e a massa seca total de raízes, de cada unidade experimental (LAVRES JUNIOR; MONTEIRO, 2003).

3.8 Determinações das concentrações de nitrogênio e potássio no tecido vegetal

Para avaliar as interações de doses de N e K quanto ao rendimento de biomassa e eficiência no uso de ambos os nutrientes, assim como a distribuição na planta foram calculados os acúmulos a partir da determinação das concentrações de K e de N nos tecidos vegetais (folhas, grãos, caule e raiz) com base nas metodologias descritas por Malavolta, Vitti e Oliveira (1997). O material vegetal coletado foi devidamente identificado, acondicionado em saco de papel e seco em estufa a 65ºC, por 70 horas. Posteriormente, foi pesado, triturado em moinho tipo *Wiley* (peneira com diâmetro de malha de 1 mm). O N foi determinado por método semi micro *Kjeldahl* após digestão sulfúrica. Para o K, fez-se a digestão nítrico-perclórica e quantificação fotometria de chama (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997).

Os extratos das amostras para determinação do N foram preparados via digestão sulfúrica pesando 100 mg de massa seca moídas para 5 mL da mistura digestora (175 mL de água destilada, 3,6 g de selenito de sódio (Na_2SeO_3), 4 g de sulfato de cobre ($CuSO_4$. 5 H_2O), 21,39 g de sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) e 200 mL ácido sulfúrico (H_2SO_4) e colocados em bloco digestor aumentando a temperatura a cada 30 minutos até atingir 350°C. O extrato

(N na forma de sulfato de amônio) foi transferido para o balão do destilador de nitrogênio (micro-Kjeldahl) adicionando-se baixos volumes de água destilada para lavagem; e na saída do equipamento foram colocados 10 mL da solução de ácido bórico com indicador em erlenmeyer de 50 mL (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997). No copo de entrada do equipamento foram colocados 15 mL de NaOH 18N, sendo o extrato destilado até o volume da solução de ácido bórico com indicador atingir o dobro do volume inicial (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997).

Em seguida, a solução borato de amônio foi titulada com H_2SO_4 0,05N (padrão Merck) por meio da bureta automática *Schott Titronic basic* até atingir o equilíbrio ácido-base "viragem da coloração" de verde para rósea, recuperando o N-amoniacal na forma de sulfato de amônio. Posteriormente foi calculada a concentração e o acúmulo de N em cada parte da planta. As equações aplicadas nos cálculos são descritas a seguir:

$$N = 0{,}7 \times \text{volume titulado de } H_2SO_4\ 0{,}05N \qquad \text{(equação 2)}$$

Equação para determinar o teor de N na amostra

$$Concentração\ de\ N = \%N \times 10 \qquad \text{(equação 3)}$$

Equação para determinar a concentração de N obtida na amostra

$$Acúmulo\ de\ N\ na\ planta = Conc.de\ N\ \times MS \qquad \text{(equação 4)}$$

Equação para determinar o acúmulo de N na planta

Para a extração do K do tecido vegetal e posterior determinação das concentrações, foram preparados com 250 mg de massa seca das amostras moídas e 2,5 mL de mistura nítrico-perclórica na proporção 2:1 (ácido nítrico: ácido perclórico) colocados em tubos de digestão dispostos em blocos de digestão elevando a temperatura a cada 30 minutos, até atingir 230°C. Posteriormente os extratos foram diluídos a 25 mL de água deionizada.

Para a determinação das concentrações de K, foram pipetadas alíquotas de 1 mL dos extratos e diluídos com 9 mL de água deionizada e procedida a leitura no fotômetro de chama. Os pontos da curva-padrão foram: 0.0, 10.0, 20.0, 40.0, 60.0, 80.0 e 100.0 (Tabela 3).

Calculando a média de µg K/ leitura, temos aproximadamente 0,77, para obtenção do fator este valor foi multiplicado por 10 que é o volume contido no tubo (1,0 mL do extrato + 9,0 mL de água deionizada).

Tabela 3 - Pontos da reta-padrão da solução de cloreto de potássio (KCl) para cálculo das concentrações de K no tecido vegetal.

Concentração de K (µg/mL)	Leitura	µg K/ leitura
0	0	0
10	15	0,667
20	31	0,645
40	52	0,769
60	72	0,833
80	86	0,930
100	100	1,0

Sendo 250 000 µg em 25,0 mL de extrato, em 1,0 mL do extrato terá 10 000 µg de massa seca no tubo, para cálculo da concentração g/kg de K nas amostras usou-se a seguinte equação:

$$Y= ((7,7 * L * 1000) / 10000) \quad \text{(equação 5)}$$

Sendo L= a leitura obtida.

Em seguida, calculou-se o acúmulo de K nos grãos, folhas, colmo e raiz multiplicando a concentração obtida pela massa seca. O acúmulo da parte aérea foi obtido com a soma dos acúmulos dos grãos, folhas e colmo.

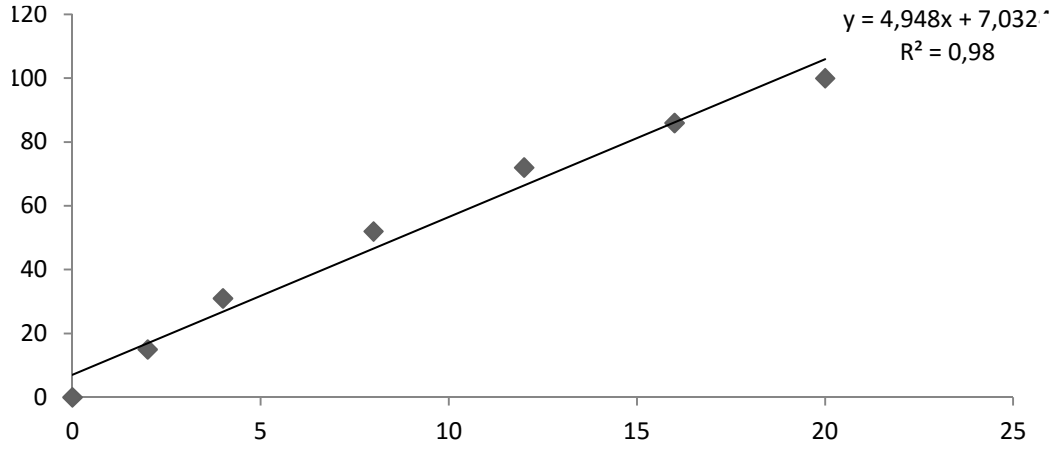


Figura 7 - Curva-padrão utilizada para a determinação da concentração de K efetuada nas amostras de tecido vegetal.

3.9 Análises Estatísticas

Os resultados foram submetidos às análises estatísticas utilizando-se o programa estatístico *SAS – System for Windows 6.11* (SAS INSTITUTE, 1996). Foi realizada análise de variância e de acordo com o nível de significância no teste F para os tratamentos (doses de N e doses de K), procedeu-se o estudo de regressão polinomial para os componentes de primeiro e segundo grau, pelo procedimento RSREG (*response surface*). Os modelos de superfície de resposta foram escolhidos com base na significância dos coeficientes de regressão, pelo teste F ($p \leq 0,05$), e pelo coeficiente de determinação (R^2). Todavia, quando a interação apresentou significância acima de 5%, optou-se por descrever/representar a respectiva variável-resposta (fenômeno) por meio do teste de comparação de médias (Tukey, $p < 0,05$) (EL-HAMDAOUI et al., 2003; ZEHIROV; GEORGIEV, 2003; FRANCO et al., 2012; SHAMS et al., 2012). Como ferramenta também usou-se os métodos estatísticos multivariados de dendrograma e análise de componentes principais no software *Statistical Analysis System*- SAS 9.3 (SAS INSTITUTE, 2011).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análise multivariada

Os resultados foram realizados com a análise estatística multivariada com o intuito de observar a similaridade dos tratamentos conforme as variáveis estudadas por meio do gráfico dendrograma da análise de agrupamento (SHAMS et al., 2012). Os resultados obtidos foram representados por teste de Tukey. Nota-se a formação de quatro agrupamentos definidos por uma distância de vizinho mais próximo inferior a 0,5; que são os grupos denominados de A, B, C e D, conforme Figura 8.

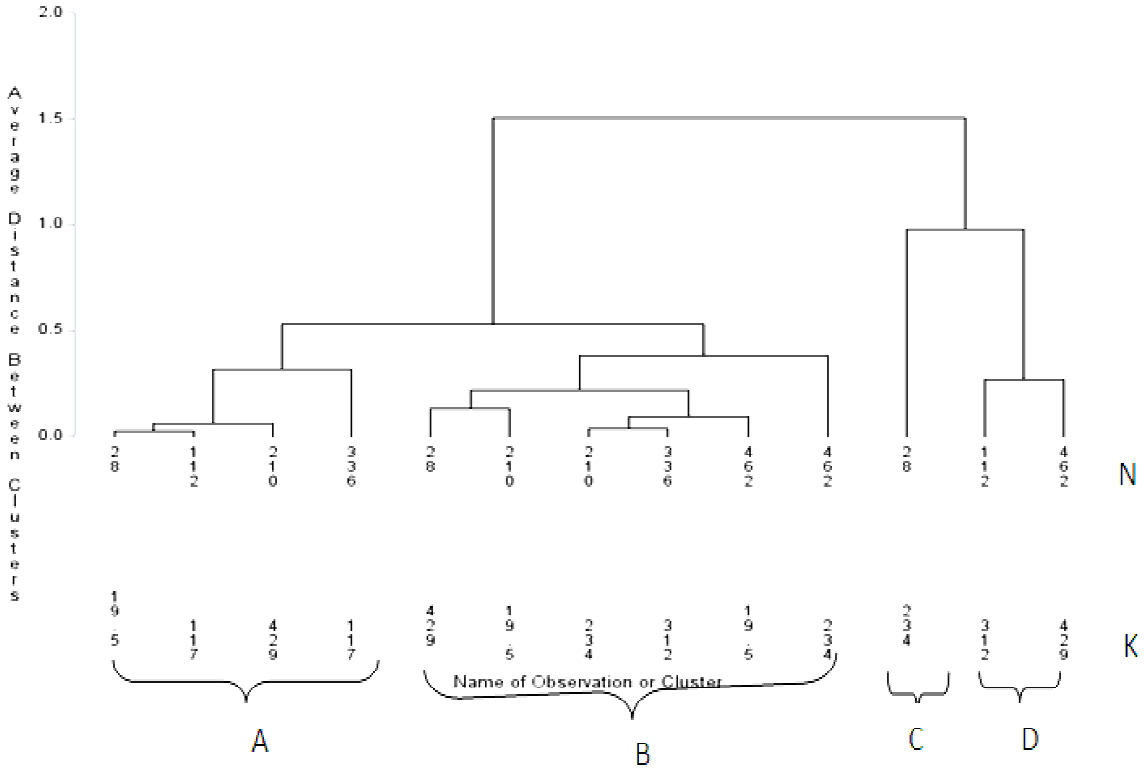


Figura 8 - Dendrograma obtido da análise de agrupamentos pelo método do vizinho mais próximo, para as variáveis-reposta do sorgo sacarino, híbrido BRS 506, submetido a combinações de doses de N e K na solução nutritiva.

No grupo B houve forte similaridade do 28N/429K com 210N/19,5K quando comparada as variáveis: assimilação de CO_2 e atividade da enzima redutase do nitrato (RNO_3^-) demonstrando que as menores doses de N ou de K combinada em quantidade maiores de N ou de K a assimilação de CO_2 é mantida, porém a quantidade de NO_2^- foi afetada negativamente.

Observa-se alta similaridade nos valores médios próximos de massa seca do caule, da raiz e dos grãos nas combinações 210N/234K e 336N/312K. As doses 462N/19,5K agrupa-se entre 210N/234K e 336N/312K devido à proximidade com 210N/234K os valores médios das variáveis massa seca de folhas, massa seca do caule, concentração intercelular de CO_2, assimilação de CO_2 e atividade da enzima redutase do nitrato. Em relação à combinação 336N/312K, o tratamento 462N/19,5K resultou em valores próximos na produção de massa seca caule, eficiência da carboxilação da RUBISCO e redutase do nitrato.

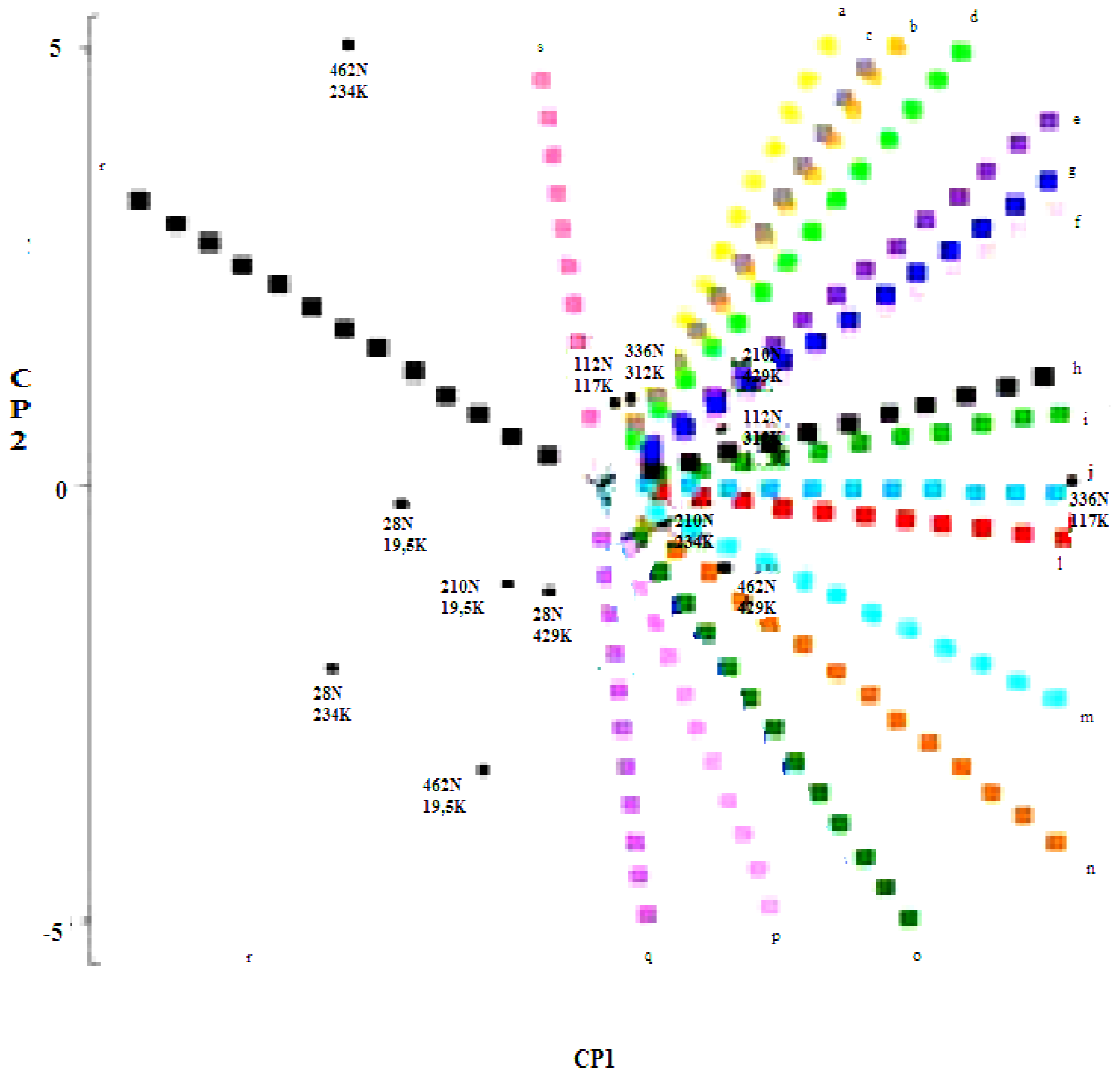
As combinações 462N/234K possui maior distância de similaridade comparada com os demais tratamentos do grupo B, sendo o valor médio da massa seca de folhas similar às combinações das respectivas doses 28N/429K e 336N/312K. Quanto a massa seca de raiz os valores mais próximos foram observados em: 210N/19,5K e 462N/19,5K. Ainda aumentando a distância os tratamentos do grupo B se combinam com o tratamento 462N/234K por apresentar massa seca parte aérea similar àquelas obtidas com as doses de 462N/19,5K, o acúmulo de K nos grãos ficou próximo do encontrado no tratamento 336N/312K e o acúmulo de N nas folhas a distância maior foi similar à obtida com 28N/429K.

No tratamento 28N/234K a distância entre as médias das variáveis foi superior a 0,5 formando o grupo C que isola também dos componentes do grupo D. As combinações 112N/312K e 462N/ 429K apresentaram forte similaridade entre massa seca de folhas, massa seca de caule, massa seca de raiz e assimilação de CO_2.

Em seguida, para aprofundamento nas análises estatística das variáveis aplicou-se o método de Análise de Componentes Principais (ACP) sendo representado pelo gráfico *Biplot* as combinações de N e K, as variáveis e suas correlações. Observa-se alta correlação positiva entre as variáveis: acúmulo de N nos grãos e produção de grãos, acúmulo de N no caule, massa seca parte aérea e altura do caule.

Houve também relação positiva entre a fotossíntese e a área foliar total, dada a proximidade entre os respectivos eixos (Figura 9). Por outro lado, a concentração intercelular de CO_2 (Ci) foi associada inversamente entre a fotossíntese e a área foliar, o que era esperado, pois a assimilação de CO_2 (fotossíntese) pode estimular a redução de Ci devido a atividade da ribulose- 1,5- bisfosfato carboxilase- oxigenase (RUBISCO).

A razão da área foliar e a área foliar específica apresentou alta correlação positiva na combinação 28N/429K. No tratamento 28N/234K, percebe-se correlação negativa com a produção de grãos e acúmulo de K nos grãos e o baixo suprimento de N, já a combinação 210N/429K apresenta alta correlação de produção de grãos com acúmulo de N e de K nos grãos (Figura 9).



Legenda

Acúmulo K grãos	a	Carbono interno	r	Área foliar específica	p	MSPA	i
Acúmulo de K folhas	e	Eficiência da carboxilação	n	Massa seca grãos	b	Altura caule	h
Acúmulo de K caule	d	Redutase do nitrato	s	Massa seca folhas	l	Massa Seca raiz	j
Acúmulo de N grãos	c	Assimilação CO_2	g	Área Foliar	o	Superfície da raiz	q
Acúmulo de N folhas	m	Acúmulo de N caule	f				

Figura 9 - Análise de componente principal pelo gráfico *biplot* das médias das variáveis avaliadas do sorgo sacarino, híbrido BRS 506, submetido a combinações de doses de N e K na solução nutritiva.

As combinações de N e K estão correlacionados com o acúmulo e N e K nos grãos refletindo na produção de grãos. Houve também correlação positiva para o acúmulo de K nas folhas com a assimilação de CO_2 e acúmulo de N no caule nas combinações de 210N/419K. Por sua vez, a correlação entre a assimilação de CO_2 e carbono intercelular foi negativa, podendo afirmar em parte que o rápido consumo de CO_2 aumenta a fixação de carbono proveniente do CO_2 assimilado. Observa-se que ocorreu forte correlação negativa entre as variáveis carbono intercelular e eficiência instantânea da carboxilação no sorgo sacarino, hibrido, BRS 506 principalmente nos tratamentos 462N/429K e 210N/234K.

O gráfico *biplot* evidencia que o carbono intercelular quando aproveitado para a atividade de fotossíntese na carência de CO_2 reduz a altura do caule do sorgo sacarino e consequentemente a massa seca da parte aérea.

Nas combinações 336N/117K a massa seca das folhas e massa seca raiz apresentaram correlação positiva, podendo deduzir que houve necessidade de o sorgo sacarino estimular o crescimento das raízes para maior absorção de K.

O acúmulo de N nas folhas e simultaneamente a eficiência da carboxilação refletiu no tamanho da área foliar, sendo os valores médios as combinações 210N/234K e 462/429K apresentaram similaridade.

Nota-se no gráfico alta correlação dos grãos com acúmulo de N nos grãos, devido a necessidade da planta no estádio de maturação dos grãos transportar o N para a formação de aminoácidos.

Por sua vez, as combinações 28N/19,5K, 210N/234K, 112N/312K, 336N/312K, 112N/117K caracterizaram valores médios para todas as variáveis representadas na análise de componente principal.

As primeiras manifestações de deficiências de N foram observadas nas plantas dos tratamentos com as combinações de doses de N e K de 28N e 19,5K (aos 22 dias após o início dos tratamentos - DAT), de 28N/234K (aos 25 DAT), 28N/429K (26 DAT). A primeira deficiência de K foi observada nas plantas das combinações 28N e 19,5K também aos 22 DAT e nas plantas do tratamento 210N/19,5K, aos 49 DAT. As plantas das combinações 112N/117K (52 DAT) e 112N/312K (38 DAT) apresentaram deficiência de Mg (Anexo D) nas folhas (dados não mostrados), sendo que as plantas da combinação 112N/117K só foram apresentaram deficiência de K aos 62 DAT.

4.2. Acúmulo de nitrogênio no sorgo sacarino

As maiores quantidades acumuladas de N nos componentes da parte aérea (grãos, folhas e caule) e nas raízes das plantas foram observadas no tratamento com a combinação de N de 336 mg L^{-1} e 117 mg L^{-1} de K, e por outro lado, os menores acúmulos de N foram obtidos pelas combinações de doses 28N/234K; 28N/429K, bem como pela combinação de dose de 462N/234K exceto para o acúmulo de N no caule (Figura 10).

O maior acúmulo de N nos grãos foi observado no tratamento com a combinação de doses de 336N/117K, sendo 95% e 88% maior em relação aos menores acúmulos observados nos tratamentos 28N/234K e 462N/19,5K, respectivamente (Figura 10A). A distribuição percentual de N nos grãos em relação ao total absorvido pelas plantas, na média dos tratamentos, correspondeu a 30%.

O maior acúmulo de N nas folhas foi observado com a combinação de 336 mg L^{-1} de N e 117 mg L^{-1} de K, correspondendo à incrementos de 213%, 51%, 43% e 137% em relação aqueles dos tratamentos 28N/234K, 210N/234K, 462N/19,5K e 462N/234K, respectivamente. (Figura 10B). A distribuição percentual de N nas folhas em relação ao total acumulado pelas plantas, na média dos tratamentos, correspondeu a 27%. O maior acúmulo de N no caule também ocorreu nas plantas cultivadas com o suprimento das doses de 336N/117K na solução, sendo superior em 512%, 120% e 102% em relação àqueles obtidos nos tratamentos 28N/429K, 210N/429K e 462N/429K, respectivamente. Por sua vez, a distribuição percentual de N no caule em relação ao total acumulado pelas plantas, na média dos tratamentos, foi de 21%.

A maior quantidade de N acumulada nas raízes foi verificada nas plantas do tratamento 336N/117K, a qual correspondeu a 183%, 252% e 96% em relação àquelas dos tratamentos 28N/234K, 28N/429K e 462N/19,5K, respectivamente (Figura 10 D), realçando a importância do suprimento combinados de ambos os nutrientes em quantidades e proporções adequadas para a exigência do vegetal. A distribuição percentual de N nas raízes em relação ao total absorvido pelas plantas, na média dos tratamentos, foi de 16%. Por fim, a ordem de extração de N pelas partes das plantas foi: grãos > folhas > caule > raízes; evidenciando a importância do transporte de N a longa distância para formação de proteínas nos grãos e, por outro, a alocação de N-inorgânico (NO_3^-e NH_4^+) e N-orgânico nas folhas (*e.g.*, clorofila e proteínas), otimizando a fotossíntese (MARSCHNER, 2012).

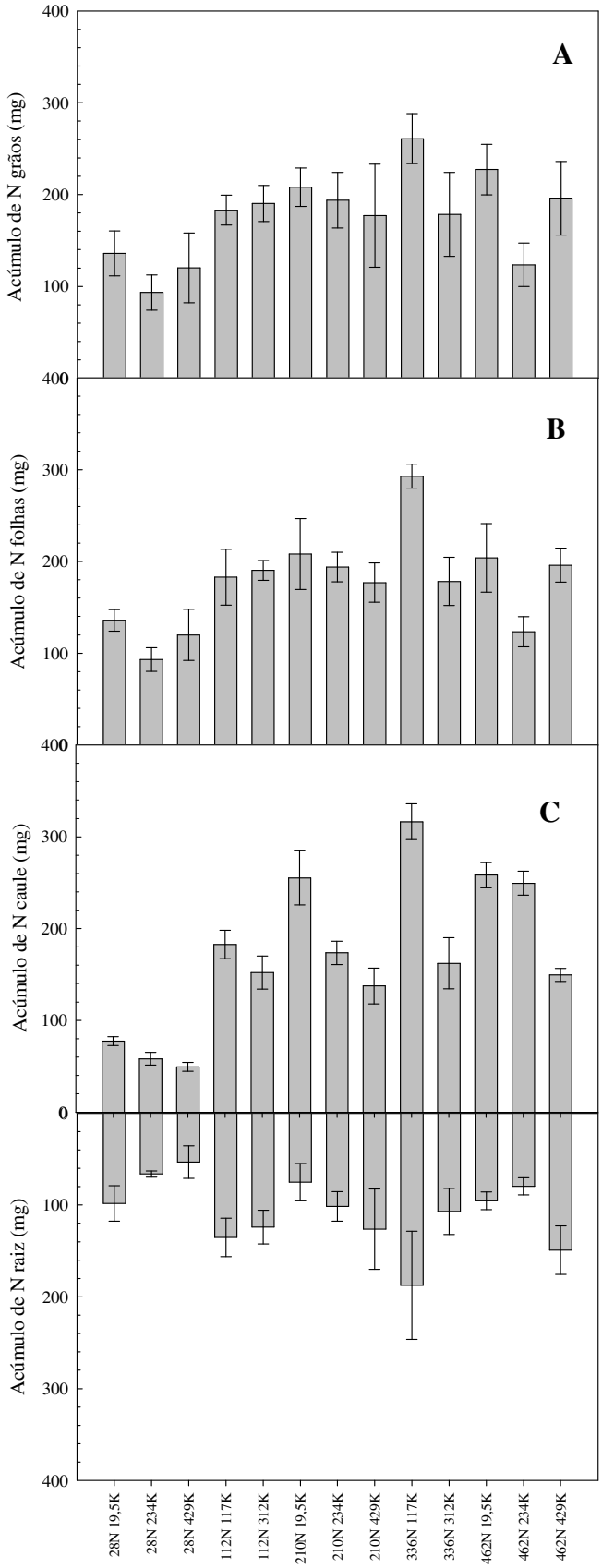


Figura 10 - Acúmulo de nitrogênio nos grãos (A), nas folhas (B), no caule (C) e nas raízes (D) do sorgo sacarino, híbrido BRS 506, submetido a combinações de doses de N e K na solução nutritiva.

4.3. Acúmulo de potássio no sorgo sacarino

As maiores quantidades acumuladas de K foram observadas no caule, seguidas das folhas e raízes das plantas submetidas aos tratamentos com as combinações de N e K de 210N/429K; 336N/117K, 336N/312K e 462N/ 429K e por outro lado, os menores acúmulos de K foram obtidos pelas combinações de doses 28N/19,5K; 210N/19,5K e 462N/19,5K (Figura 11). Os menores acúmulos foram obtidos nos grãos (Figura 11A).

Os maiores acúmulos de K nos grãos foram observados nos tratamentos com as combinações de doses de 462N/234K e 336N/117K, correspondendo a incrementos de 109% e 83% em relação ao menor acúmulo observado no tratamento 28N/234K, respectivamente (Figura 11A). Considerando a média dos tratamentos, a distribuição percentual de K nos grãos em relação ao total absorvido pelas plantas, foi de 7%.

O maior acúmulo de K nas folhas foi observado com a combinação de 336 mg L^{-1} de N e 117 mg L^{-1} de K, o qual correspondeu à incrementos de 192% e 198% em relação aqueles dos tratamentos 28N/19,5K e 462N/19,5K, respectivamente. (Figura 11B). A distribuição percentual de K nas folhas em relação ao total absorvido pelas plantas foi de 27%, considerando a média dos tratamentos. As maiores quantidades acumuladas de K no caule foram constatadas nos tratamentos com as combinações de doses de 336N/117K, 336N/312K e 462N/429K, sendo superiores em 317%, 297% e 307% em relação aquele obtido no tratamento 462N/19,5K, respectivamente. Por sua vez, a distribuição percentual de K no caule em relação ao total acumulado pelas plantas, na média dos tratamentos, foi de 55%, realçando a importância do potássio nos processos de transporte de sacarose e fotoassimilados da parte aérea para as raízes, via caule/tronco/colmo das plantas (EPSTEIN; BLOOM, 2005).

Quanto aos acúmulos de K nas raízes, as plantas dos tratamentos 28N/234K, 112N/312K, 210N/429K e 462N/429K apresentaram as maiores absorções, as quais corresponderam ao incremento de 851%, 887%, 713% e 657% em relação àquelas do tratamento 462N/19,5K, respectivamente. Todavia, deve-se enfatizar que suprimento combinado de ambos os nutrientes deve ocorrer em quantidades e proporções adequadas para o correto atendimento das exigências nutricionais da planta em N e K. Por fim, a distribuição percentual de K nas raízes em relação ao total absorvido pelas plantas, na média dos tratamentos, foi de 16%, o que evidencia a seguinte ordem de extração de K nas partes das plantas de sorgo, híbrido BRS 506: caule > folhas > raízes >> grãos.

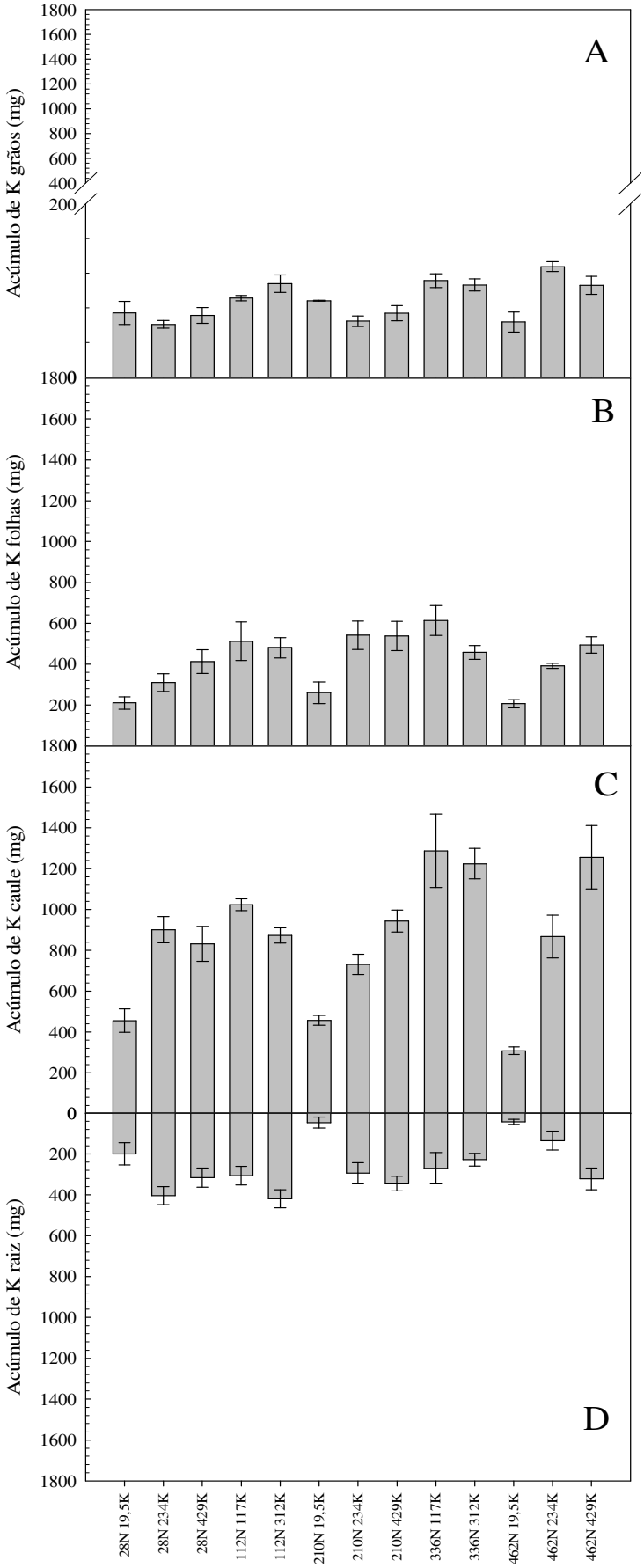


Figura 11 - Acúmulo de potássio nos grãos (A), nas folhas (B), no caule (C) e nas raízes (D) do sorgo sacarino, híbrido BRS 506, submetido a combinações de doses de N e K na solução nutritiva.

4.4. Atividade da redutase do nitrato

A interação das doses de N e K não foi significativa para a atividade da redutase do nitrato (RNO_3^-), avaliada aos 68 dias após início dos tratamentos (estádio fenológico EC2), nos limbos foliares (folha +2) das plantas de sorgo (Figura 12).

As maiores atividades da RNO_3^- foram obtidas nas plantas dos tratamentos com as combinações de doses de 112N/117K e 112N/312K, as quais foram superiores em 438% e 725% em relação àquela do tratamento 28N/234K, evidenciando incremento acentuado da atividade da enzima quando se incrementou o suprimento de N na solução nutritiva em quatro vezes. Por sua vez, considerando-se o suprimento de N de 112 mg L^{-1}, a atividade da RNO_3^- foi aumentada em 16% quando incrementou-se a dose de K na solução nutritiva de 117 mg L^{-1} para 312 mg L^{-1}. Observa-se também que a atividade da RNO_3^- nas plantas dos tratamentos 28N/234K, 210N/234K e 462N/429K não diferiu entre elas (dados não mostrados), possivelmente pelo menor crescimento limitado pelo baixo suprimento de N (28 mg L^{-1}) e, por outro lado, com o adequado (210 mg L^{-1}) e alto suprimento de nitrogênio (462 mg L^{-1}) as plantas apresentaram maiores crescimentos e produções de biomassa, podendo inferir que o nitrato absorvido no tecido já havia sido aproveitado pela planta.

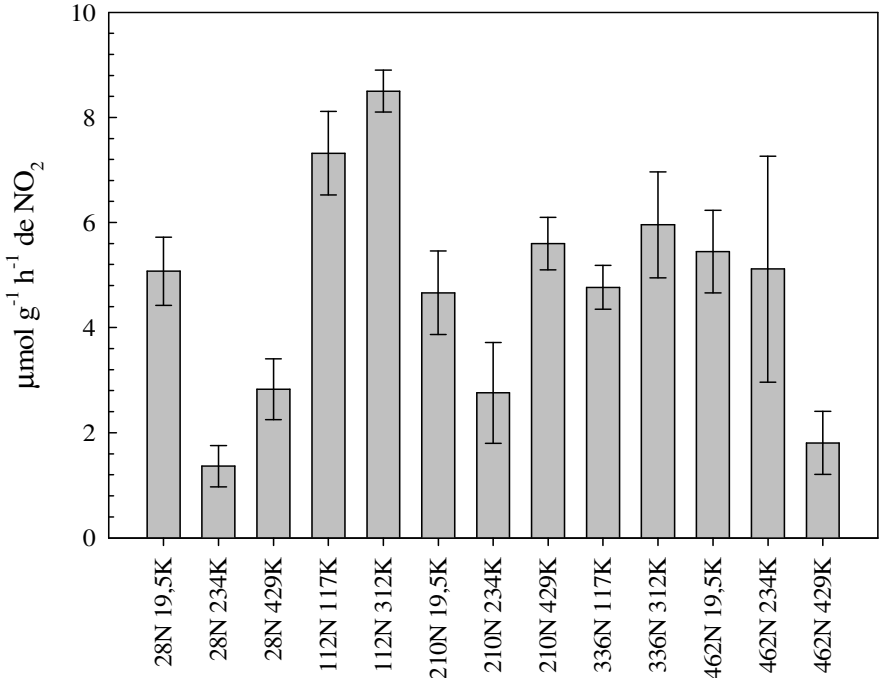


Figura 12- Atividade da enzima redutase do nitrato efetuada nas folhas +2, aos 68 dias após o início dos tratamentos (estádio fenológico EC 3), nas plantas de sorgo sacarino, híbrido BRS 506, submetidas a combinações de doses de N e K na solução nutritiva.

4.5. Determinação indireta do teor de clorofila (em índices SPAD)

A interação significativa ($p < 0,05$) das doses de N e K não foi significativa para os teores de clorofila avaliados aos 18, 48 e 58 dias após início dos tratamentos (estádios fenológicos EC 1, EC 2 e EC 3, respectivamente), nos limbos foliares (folha +2) das plantas de sorgo, híbrido BRS 506, submetidas a combinações de doses de N e K na solução nutritiva (Figura 13).

Aos 18 dias após o início dos tratamentos (DAT), foi observado que as plantas dos tratamentos com as combinações de doses de N e K de 210N/19,5K, 336N/117K, 462N/19,5K, 462N/234K e 462N/429K apresentaram os maiores índices SPAD, sendo superiores, respectivamente, em 26%, 26%, 31%, 29% e 28% àquele observado para o tratamento 112N/312K. O índice SPAD médio, na média dos tratamentos, foi de 34.

Para a determinação efetuada aos 48 DAT, foi observado que não foi significativa entre os índices SPAD para todos os tratamentos, exceto na combinação de doses de N e K de 28N/234K em relação às demais combinações, cujo índice SPAD correspondeu a 78% do valor médio, considerando todos os demais tratamentos. Por sua vez, o índice SPAD médio, na média de todos os tratamentos, foi de 48.

Na última avaliação da determinação indireta do teor de clorofila nas lâminas foliares (folha +2) aos 58 DAT, também foi constatado que não foi significativa entre os índices SPAD de todos os tratamentos, exceto no tratamento 28N/234K em relação às demais combinações, que foi 20% inferior ao índice SPAD médio, considerando todos os demais tratamentos. O índice SPAD médio, na média de todos os tratamentos, foi de 52.

Percebe-se também, que os índices médios SPAD, em todos os tratamentos, incrementaram ao longo das três avaliações efetuadas. Todavia, não se pode afirmar que estes valores poderiam aumentar caso fossem efetuadas outras avaliações mais tardias, ou próximas ao final do experimento. Bullock e Anderson (1998), avaliando a variação dos teores de clorofila e de N em plantas de milho supridas com nitrogênio, relataram que mais clorofila foi produzida nas folhas, resultando em aumento da intensidade do verde e que os teores de clorofila correlacionaram-se positivamente com os teores de N nas folhas durante o experimento. Porém, deve-se considerar que este aumento de clorofila atinge um patamar, designado como ponto de maturidade fotossintética, a partir do qual se mantém invariável, mesmo com o aumento da concentração de N no tecido, o qual poderá estar associado a outros compostos de reserva ou nitrato armazenado em vacúolo (MUÑOZ-HUERTA et al., 2013).

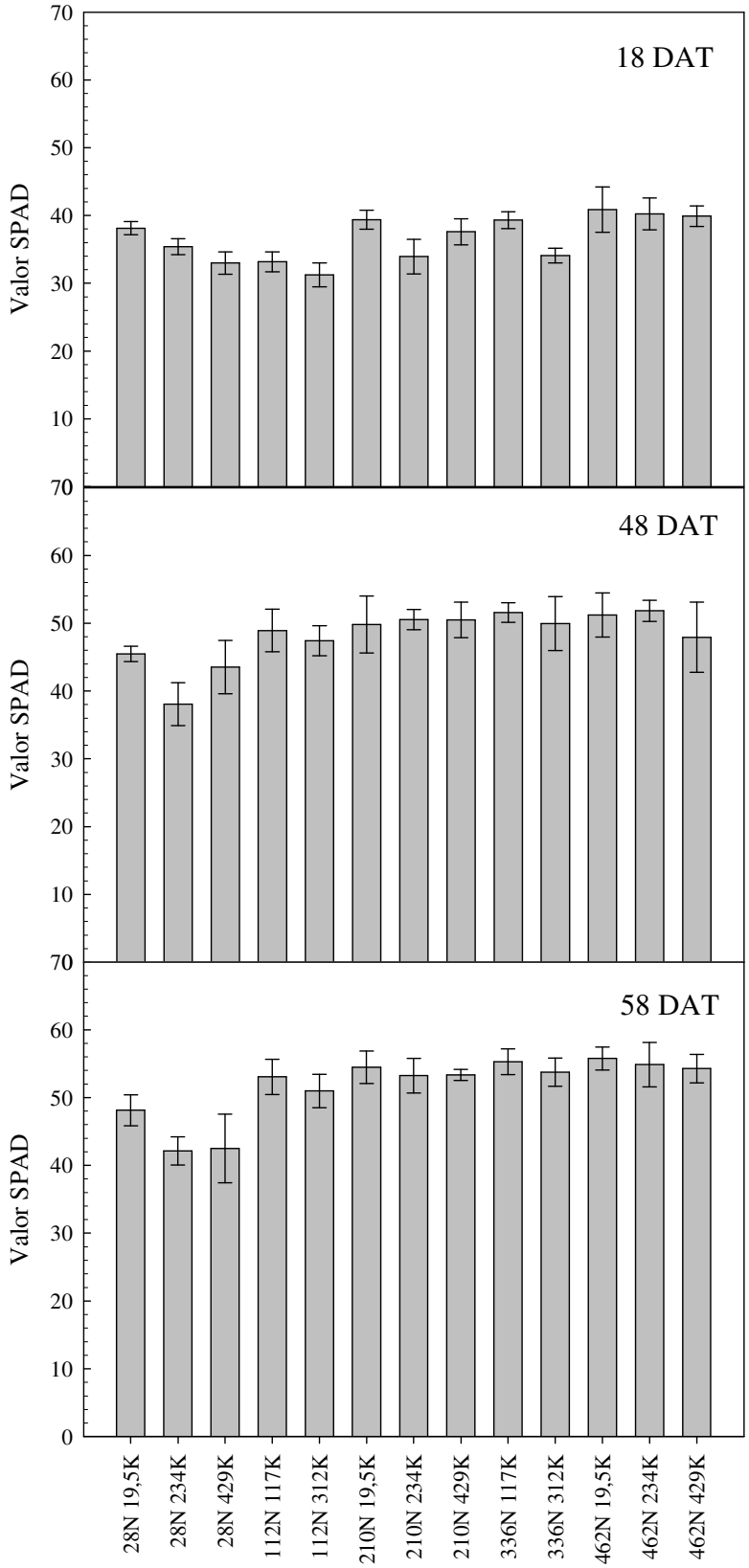


Figura 13 - Determinação indireta do teor de clorofila (em valores SPAD) nas folhas +2 das plantas de sorgo sacarino, híbrido BRS 506, submetidas a combinações de doses de N e K na solução nutritiva, aos 18 (estádio fenológico EC1), 48 (EC2) e 58 dias (EC3) após o início dos tratamentos.

4.6. Assimilação de CO_2, carbono interno e eficiência instantânea da carboxilação

A interação foi significativa entre as doses de N e K para a taxa de assimilação de CO_2 (*A*) e para a eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i) nas plantas de sorgo sacarino (Figura 14). Para a variável pressão parcial de CO_2 intercelular (C_i) não foi observada interação significativa das combinações de doses de N e K (Figura 15).

Para a taxa de assimilação de CO_2 (*A*), verificou-se que as plantas do tratamento com as combinações de doses de N e K de 210N/429K apresentaram maiores taxas fotossintéticas, sendo superior em 58% e 59% daquelas observadas, respectivamente, para os tratamentos 462N/234K e 336N/312K, as quais apresentaram as mais baixas taxas de assimilação de CO_2. A taxa de assimilação de CO_2 incrementou em 37% quando se aumentaram as concentrações de N e K na solução de 28 mg L^{-1} de N e 19,5 mg L^{-1} de K para 462 mg L^{-1} de N e 429 mg L^{-1} de K, ou seja, da menor combinação para a maior combinação de doses (Figura 14A).

Quanto à eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i), verificou-se que as plantas dos tratamentos com as combinações de doses de 28 mg L^{-1} de N com 429 mg L^{-1} de K e 336 mg L^{-1} de N com 117 mg L^{-1} de K apresentaram valores de A/C_i quatro vezes superior quando comparados aqueles dos tratamentos 28N/19,5K e 28N/234K, demonstrando que o CO_2 fixado na célula (C_i) foi rapidamente aproveitado pelo metabolismo da planta quando as disponibilidades de N e K na solução nutritiva aumentaram.

Os menores valores de C_i observados para os tratamentos com as combinações de doses de 210N/234K, 336N/117K, 336N/312K e 462N/429K (Figura 15), podem ser explicados possivelmente devido a maior taxa de consumo de CO_2 em relação ao influxo de CO_2 por meio dos estômatos, ou seja, pelos aumentos nas taxas de assimilação de CO_2 (*A*). Todavia, estes menores valores de C_i (Figura 15) não estão necessariamente associados aos mesmos tratamentos das combinações de doses de N e K que favoreceram os maiores valores de *A* (Figura 14A), provavelmente pela elevada variação dos valores de Ci, dentro dos tratamentos.

Decréscimos nos valores de C_i podem reduzir a taxa de assimilação de CO_2 devido à redução na quantidade de substrato para atividade da ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase-oxigenase (MACHADO et al., 2005). Entretanto, menores valores de C_i também estimulam a abertura dos estômatos, permitindo maior influxo de CO_2 para a cavidade subestomática, o que tende a um equilíbrio entre consumo e entrada de CO_2, mantendo Ci praticamente constante (MACHADO et al., 2005).

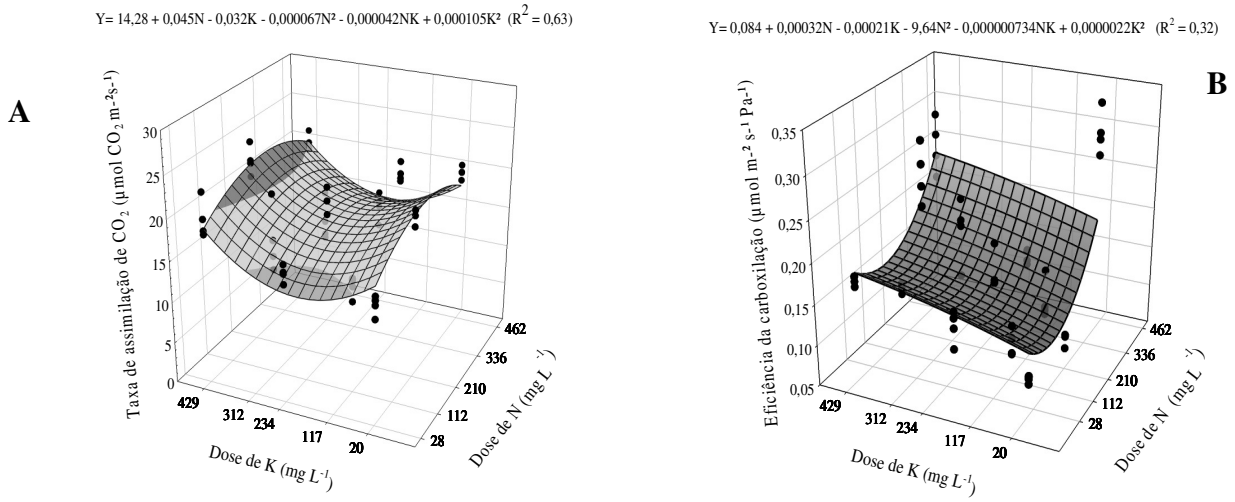


Figura 14 - Taxa de assimilação (*A*) de CO_2 [A] e eficiência instantânea de carboxilação (*A*/Ci) [B] avaliadas nas folhas +3, aos 54 dias após o início dos tratamentos (estádio fenológico EC3), nas plantas de sorgo sacarino, híbrido BRS 506, submetidas a combinações de doses de N e K na solução nutritiva.

A combinação de doses de N e K de 336N/117K permitiu maiores incrementos nas variáveis estudadas, como maiores acúmulos de N e de K pelas plantas (Figuras 10 e 11), maior eficiência instantânea de carboxilação (*A*/C_i), na fixação de CO_2 (Figura 14), na produção de massa seca de folhas e área foliar comparada aos demais tratamentos.

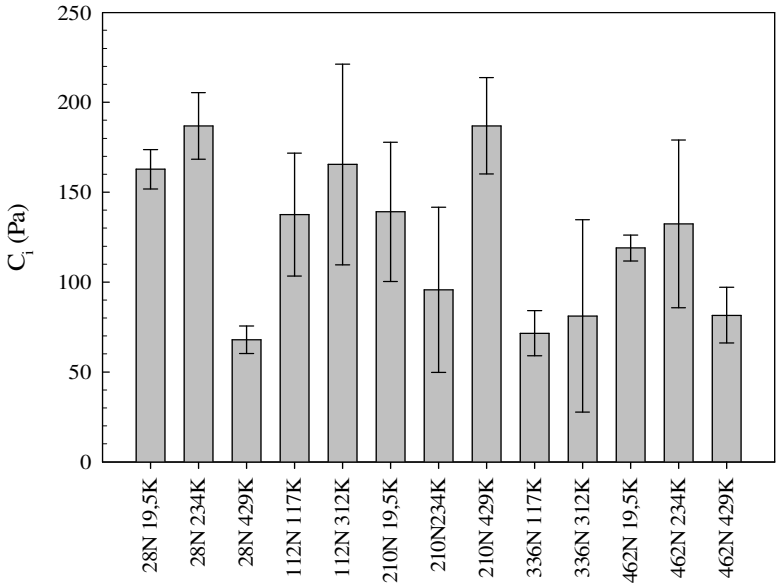


Figura 15 - Pressão parcial de CO_2 intercelular (C_i) avaliada nas folhas +3, aos 54 dias após o início dos tratamentos (estádio fenológico EC 3), nas plantas de sorgo sacarino, híbrido BRS06, submetidas a combinações de doses de N e K na solução nutritiva.

4.7.Área foliar, massa seca das folhas da área foliar e área foliar específica

A interação não foi significativa ($p < 0,05$), as doses de N e K para a área foliar avaliada aos 82 dias após início dos tratamentos (Figura 16). As combinações de doses 462N/234K foram os primeiros tratamentos a induzir nas plantas o estado de senescência nas folhas resultando menor estimativa entre os demais, devido o excesso de N absorvido pela planta sorgo e houve também redução do crescimento foliar.

A área foliar (Figura 16A) na combinação de 336N/117K foi 81% superior em relação a 210N/234K , sabe-se que o N na planta participa do crescimento e desenvolvimento da parte aérea pelos processos de fotossíntese contribuindo na expansão da área foliar quando suprido adequadamente. Todavia, o excesso de N e K (462 mg L^{-1} e 429 mg L^{-1}) fornecido nas soluções nutritivas para as plantas de sorgo foi 79% inferior as combinações de doses 336N/117K.

Observa-se na massa seca das folhas da área foliar (Figura 16B) que o excesso de K nas combinações das doses 28N/429K e 462N/429K apresentou 5% de diferença entre as médias, evidenciando a importância do K no transporte e crescimento foliar. Em relação à combinação 210N/ 234K considerada como controle a massa seca da área foliar foi inferior a 83% da combinação 336N/117K .

A área foliar específica (figura 16C) nas combinações das doses 462N/19,5K e 210N/234K comparadas com o 210N/19,5K que obteve o menor média (excluindo 462N/234K) incrementaram 50% e 49%, respectivamente. Enquanto as combinações das doses 28N/ 234K e 28N/19,5K foram 83% superior em relação à combinação de dose 210N/19,5K, considerando a média do desvio 5,74 entre os treze tratamentos, assim pode-se deduzir que o balanço nutricional de N e K interfere no crescimento das folhas e não a disponibilidade em excesso de N ou K que produzirá maior área foliar e consequentemente maior biomassa no sorgo sacarino.

Quanto o número de folhas nas plantas variou entre doze e treze ao longo do experimento, porém a combinação 462N/ 234K aos 72 DAT (dados não apresentados) apenas restaram 3 e 4 folhas superiores fixadas no caule, causando a menor área foliar verde total, talvez, a alta dose de N provocou efeito tóxico na planta, ocorrendo rápido ressecamento das folhas.

Durante o ciclo, o sorgo sacarino para maior produtividade depende das folhas como os principais órgãos fotossintéticos e da taxa de da área foliar (MAGALHÃES et al., 2000).

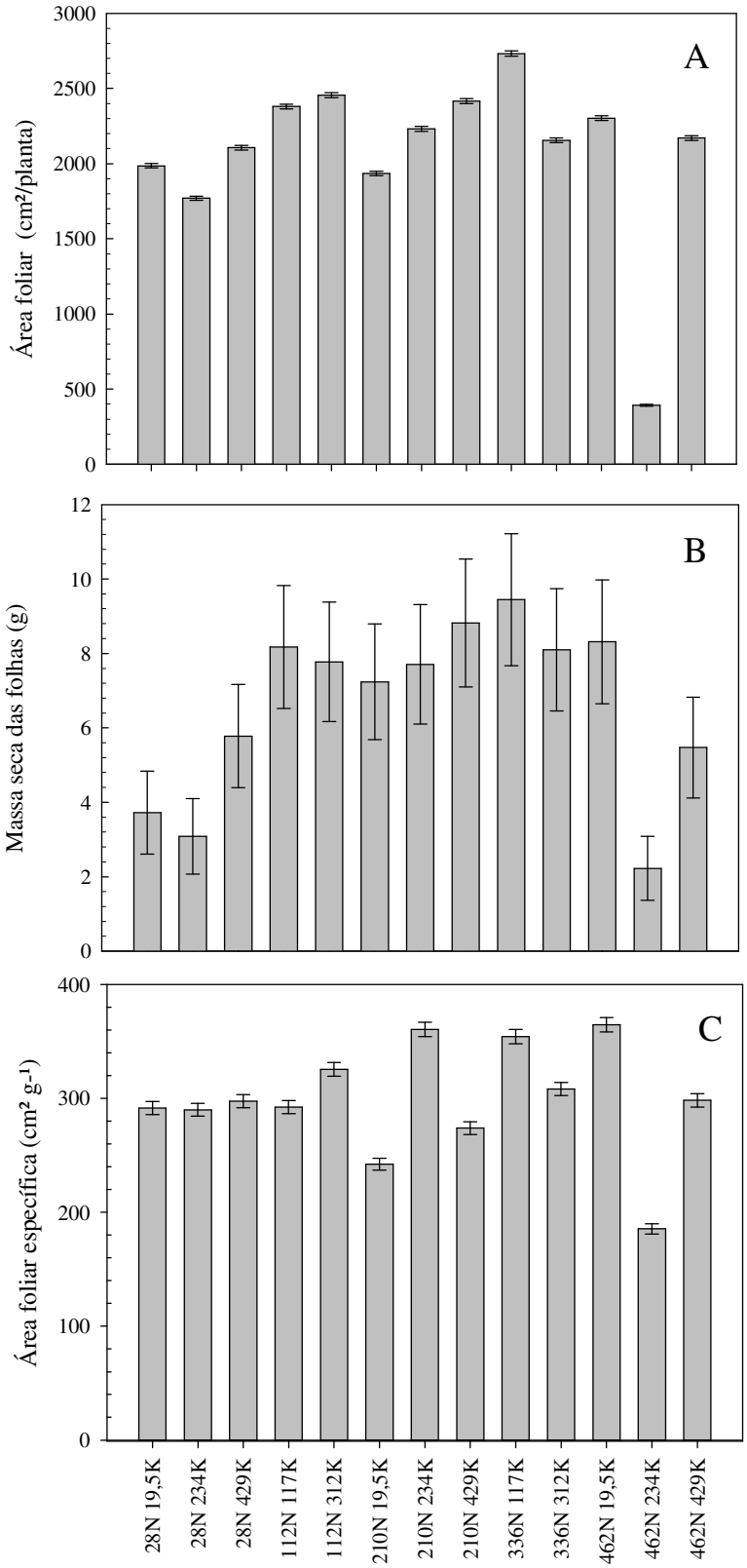


Figura 16 - Área foliar (A), massa seca das folhas da área foliar (B), área foliar específica (C) no estádio fenológico E.C3 aos 82 DAT do sorgo sacarino, híbrido BRS 506, submetido a combinações de doses de N e K na solução nutritiva.

4.8. Comprimento total e superfície total de raízes

As plantas do tratamento 462N/234K apresentaram menor comprimento radicular. Isso pode ser devido a alta disponibilidade de N na solução nutritiva, não sendo necessário desenvolver-se para absorver os elementos essencias exigidos em maiores quantidades. No tratamento 28N/234K ocorre o efeito contrário a necessidade de suprir a deficiência de N promove estímulo para o crescimento radicular das plantas com o intuito de absorver o N.

As plantas tratadas com doses 28 mg L^{-1} N e 429 mg L^{-1}K apresentaram o primeiro sintoma de deficiência de N aos 23 DAT e vale ressaltar que as raízes deste tratamento exsudaram aos 44, 47 e 52 DAT possível substância de coloração marrom-avermelhada (Anexo C) com formação da mucilagem devido talvez a deficiência de N que segundo alguns pesquisadores as raízes ativam enzimas visando desenvolver microrganismos para a obtenção do N. Já a combinação 28N/ 234K apresentou incremento de 73% em relação a 462N/ 234K.

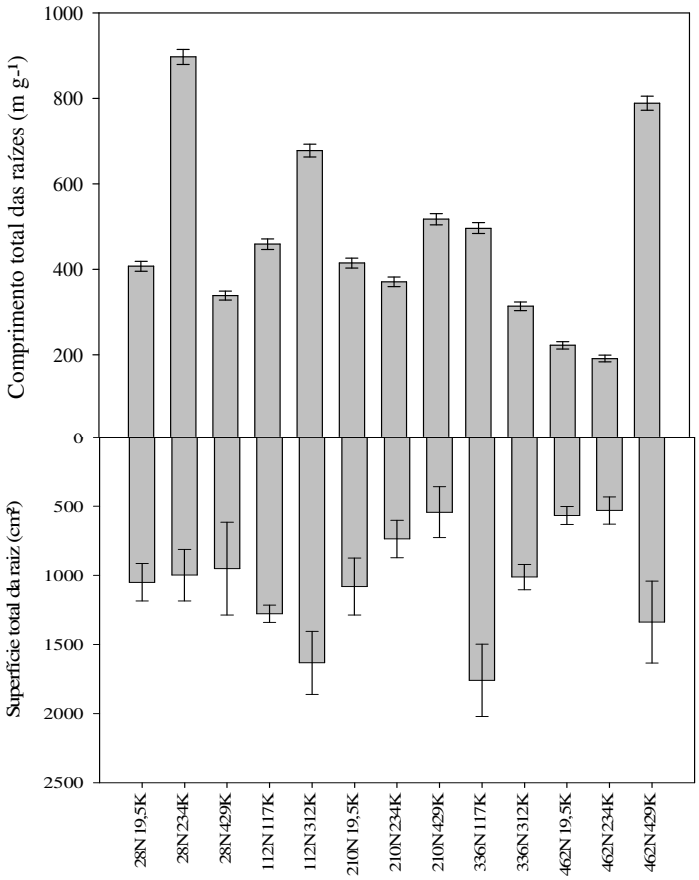


Figura 17 - Comprimento total das raízes (A) e superfície radicular (B) no estádio fenológico E.C3 aos 82 DAT do sorgo sacarino, híbrido BRS 506, submetido a combinações de doses de N e K na solução nutritiva.

4.8. Produção de biomassa da parte aérea e das raízes

A interação entre as doses de N e K foi significativa para a produção de grãos (Figura 18A), sendo observada diferença significativa entre as médias de produção dos tratamentos 28N/234K e 210N/19,5K e 462N/19,5K em relação aos demais. As menores produção de grãos das plantas dos tratamentos 28N/234K, 210N/19,5K, e 469N/19,5K evidenciam o desequilíbrio nutricional entre ambos os nutrientes, limitando o rendimento de biomassa de grãos e, por fim, evidenciando-se a necessidade do suprimento de N e K em quantidades adequadas e equilibradas. A produção de grãos das plantas submetidas à combinação de doses de N e K de 112 e 312 mg L^{-1} foi incrementada em 63% e 57%, respectivamente, aos tratamentos 28N/234K e 210N/19,5K.

Quanto à produção de biomassa de folhas (Figura 18B), também foi observado que as plantas do tratamento com a combinação de N e K de 336 e 117 mg L^{-1} apresentaram incremento de 74%, 44% e de 49% em relação a combinação das menores doses de N e K, às doses de 210 e 234 mg L^{-1} e em relação à combinação das maiores doses, respectivamente. A massa seca do caule (Figura 18C) foi incrementada em 82% pelo fornecimento das doses de N de 336 mg L^{-1} e de K de117 mg L^{-1} comparado com a menor produção de caule (462 mg L^{-1} de N e 234 mg L^{-1} de K) e em 40% em comparação ao tratamento com a menor combinação de doses de N e K, provavelmente pelo efeito de sobreamento das folhas em consequência da maior vegetação favorecida pelo N em excesso. A massa seca total e o desenvolvimento da planta é formada a partir da atividade da fotossíntese a qual responde a aproximadamente 95% (MAGALHÃES; DURÃES, 2000).

A interação das doses de N e K foi significativa para a produção de massa seca de raízes (Figura 18D), sendo que as maiores produções foram obtidas com as combinações de doses de N e K, respectivamente, de 28N/19,5K; 336N/117K e de 462N/429K. Por outro lado, as menores produções de biomassa seca de raízes foram observadas para as combinações de doses de N e K, respectivamente, de 210N/19,5K; 462N/19,5K e 462N/234K, as quais foram em média 50,4% menor em relação à média obtida com os tratamentos 28N/19,5K; 336N/117K e de 462N/429K.

A produção de massa seca parte aérea (caule e folhas) obtida no tratamento 336 mg L^{-1} de N e 117 mg L^{-1} incrementou em 62% em relação à combinação das menores doses de N e K, em 51% em relação à combinação de 210 mg L^{-1} de N e 234 mg L^{-1} de K e em 34% em relação à combinação das maiores doses de N e K (Figura 18).

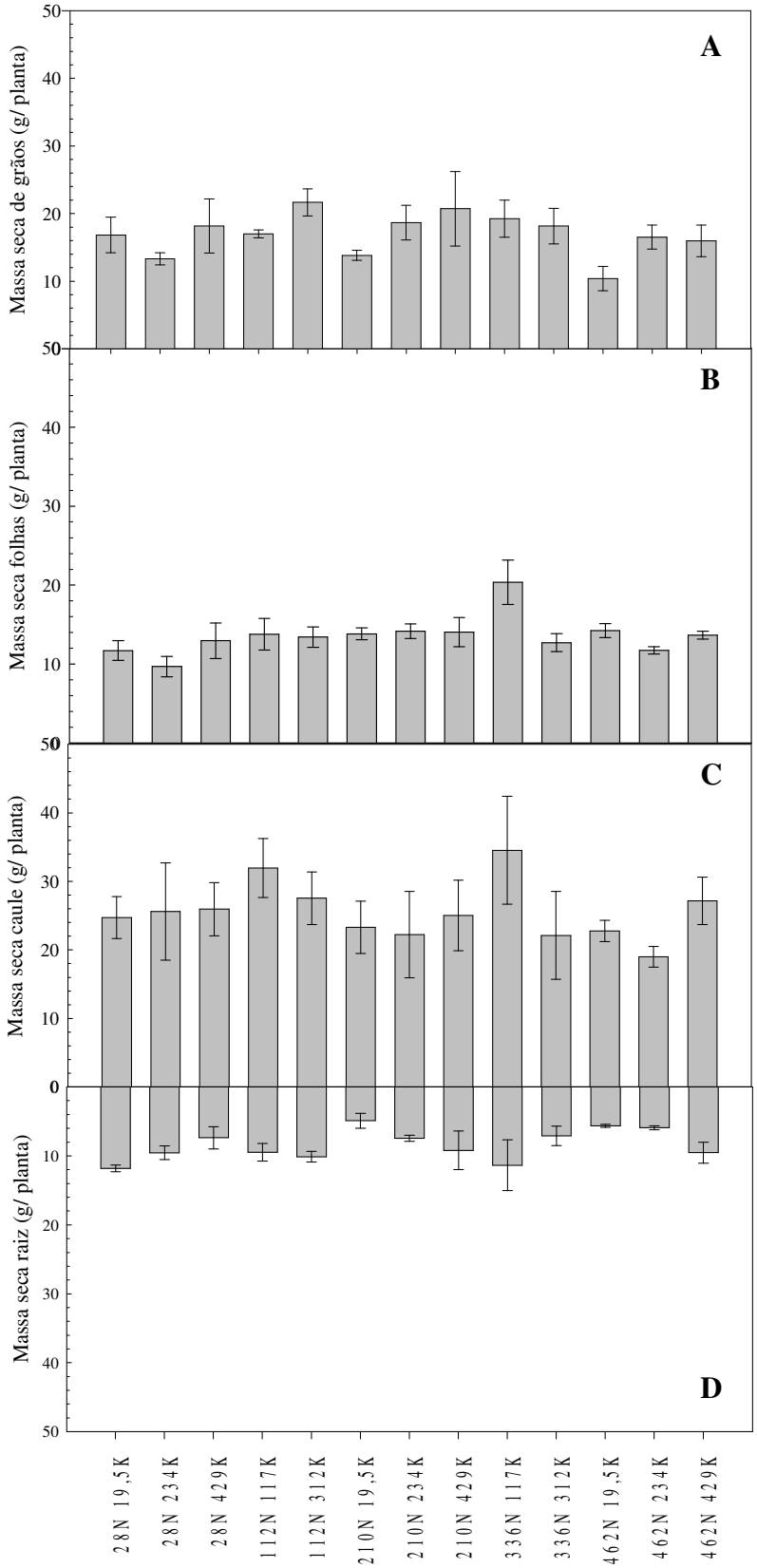


Figura 18 - Produção de massa seca de grãos (A), de folhas (B), de caule (C) e de raízes (D) do sorgo sacarino, híbrido BRS 506, submetido a combinações de doses de N e K na solução nutritiva.

O N presente na folha está envolvido na assimilação de carbono devido às enzimas envolvidas no processo de fixação do carbono, ou seja, na fotossíntese (MARSCHNER, 2012), processo pelo qual o potássio também desempenha suas funções fisiológicas na abertura e fechamento dos estômatos, pelo controle do potencial de água das células (MALAVOLTA, 2006; EPSTEIN; BLOOM, 2006; MARSCHNER, 2012). A concentração interna de CO_2 (C_i) foi maior no tratamento 28N/234K podendo sugerir que esta combinação não possibilitou o aproveitamento total de C_i disponível para a assimilação de CO_2 e, por sua vez, para a produção de biomassa das plantas (Figura 18). Nas plantas do tratamento 336N/117K foi observada alta taxa fotossintética (*A*), sob baixa concentração de C_i na folha, resultando também em maior eficiência instantânea da carboxilação (A/C_i), possibilitado pelos maiores acúmulos de N e K nas folhas – sugerindo também aumento das eficiências de uso de N e K -, resultando em maior crescimento da parte aérea (Figura 18).

Decréscimos nos valores de C_i podem reduzir a taxa de assimilação de CO_2 devido à redução na quantidade de substrato para atividade da ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase-oxigenase (MACHADO et al., 2005). Entretanto, menores valores de C_i também estimulam a abertura dos estômatos, permitindo maior influxo de CO_2 para a cavidade subestomática, o que tende a um equilíbrio entre consumo e entrada de CO_2, mantendo C_i praticamente constante (MACHADO et al., 2005), e neste contexto o adequado suprimento de potássio exerce efeito marcante nestes atributos fisiológicos, os quais poderiam estar mais bem descritos neste estudo se os valores de condutância estomática (g_s) também tivessem sido considerados.

A área foliar total, a área foliar específica e a razão de área foliar (Figura 16) permitiu estimar o aproveitamento da energia luminosa e transformação em energia química visando o aumento da fitomassa. Cabe ressaltar, que a área foliar total foi realizada com folhas frescas coletadas no final do experimento (folhas em expansão, folhas recém-expandidas e folhas maduras), portanto não foram contabilizadas as folhas que se desprenderam do caule por senescência. Por esta razão, as plantas do tratamento 462N/234K apresentaram a menor área total (Figura 16), visto que possivelmente este maior suprimento de N pode ter favorecido maior taxa de emissão de folhas e, por sua vez, maior taxa de senescência.

Quanto ao conteúdo de clorofila, avaliado em valores SPAD, observou-se em todos os tratamentos que houve incremento ao longo das três avaliações efetuadas. Todavia, não se pode afirmar que estes valores poderiam aumentar caso fossem efetuadas outras avaliações mais tardias, ou próximas ao final do experimento, notadamente naquelas plantas em que foram verificadas elevadas taxas de senescência das folhas (tratamento 462N/234K). Neste

aspecto vale destacar o trabalho de Bullock e Anderson (1998), que avaliando a variação dos teores de clorofila e de N em plantas de milho supridas com nitrogênio, relataram que mais clorofila foi produzida nas folhas, resultando em aumento da intensidade do verde e que os teores de clorofila correlacionaram-se positivamente com os teores de N nas folhas durante o experimento. Porém, deve-se considerar que este aumento de clorofila atinge um patamar, designado como ponto de maturidade fotossintética, a partir do qual se mantém invariável, mesmo com o aumento da concentração de N no tecido, o qual poderá estar associado a outros compostos de reserva ou nitrato armazenado em vacúolo (MUÑOZ-HUERTA et al., 2013).

5. CONCLUSÃO

Este estudo destaca a importância do conhecimento do equilíbrio entre a relação N e K disponível e o metabolismo do sorgo de forma a promover aumento de biomassa e/ ou grãos. Considerando o caule da planta para fins de geração de energia renovável o tratamento 336N/ 117K e 112N/117K foram os mais produtivos em termos de biomassa. Quanto a produção de grãos, o tratamento com 112N/312K possibilitou maior enchimento dos grãos. Assim o trabalho contribuiu para comprovar a influência que há na fisiologia e metabolismo do sorgo quando em deficiência ou excesso de N e K, principalmente na atividade fotossintética. Apesar de não citado no decorrer do trabalho, considero relevante ressaltar que o sorgo sacarino também apresentou alta eficiência no uso da água neste experimento, mesmo com suprimento constante não houve consumo elevado de água.

REFERÊNCIAS

AMANULLAH, B.; HASSAN, M. J.; NAWAB, K.; ALI, A. Response of Specific Leaf Area (SLA), Leaf Area Index (LAI) and Leaf Area Ratio (LAR) of Maize (*Zea mays* L.) to plant density, rate and timing of nitrogen application. **World Applied Sciences Journal**, Dubai, v. 2, n. 3, p. 235-243, 2007.

AMARANTE, C. V. T.; STEFFENS, C. A.; SANGOI, L.; ZANARDI, O. Z.; MIQUELOTO, A.; SCHWEITZER, C. Quantificação de clorofilas em folhas de milho através de métodos ópticos não destrutivos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 9, n. 1, p. 39-50, 2010.

AMTMANN, A.; RUBIO, F. **Potassium in plants**. Chichester: eLS., 2012.

BARBOSA, A. M.; GUIDORIZI, K. A.; CATUCHI,T. A.; MARQUES, T. A. Biomass and bioenergy partitioning of sugarcane plants under water deficit. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg, v. 37, n. 142, p. 1-8, 2015.

BELLASIO, C.; GRIFFITHS, H. Acclimation of C4 metabolism to low light in mature maize leaves could limit energetic losses during progressive shading in a crop canopy. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 65, n. 13, p. 3725–3736, 2014.

BERGMANN, W. **Nutritional disorders of plant:** Development visual and analytical diagnosis. Jena: Gustav Fischer, 1992.

BOARD ON SCIENCE AND TECHNOLOGY FOR INTERNATIONAL DEVELOPMENT. Office of International Affairs; Policy and Global Affairs. Sorghum. In: _____. **Lost Crops of Africa**: Volume I: Grain. Washington, DC: The National Academies Press, 1996. p. 127-194. Disponível em: http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=2305&page=127.

BULLOCK, D. G.; ANDERSON, D. S. Evaluation of the Minolta SPAD-502 chlorophyll meter for nitrogen management in corn. **Journal Plant Nutrition**, New York, v. 21, n.4, p. 741-755, 1998.

CAIRO, P. A. R.; OLIVEIRA, L. E. M.; MESQUITA, A. C. **Análise de crescimento de plantas**. 1. ed. Itapetinga: UESB, 2008. 72 p.

CAMPBELL, W. H. Nitrate reductase structure function and regulation on bridging to gap between biochemistry and physiology. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 50, n.7,p. 277-303, 1999.

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; SESTARI, I. **Manual de fisiologia vegetal**: fisiologia de cultivos. São Paulo: Agronômica Ceres, 2008. 864 p.

COELHO, A. M.; WAQUIL, J. M.; KARAM, D.; CASELA, C. R.; RIBAS, P. M. **Seja o doutor do seu sorgo**. Piracicaba: POTAFOS, 2002. 24 p. (Arquivo do Agrônomo, 14; Encarte do Informações Agronômicas, n. 100).

DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. **Plant biochemistry**. Hoboken: Academic Press, 1997. 554 p.

Du PLESSIS, J. **Sorghum production**. Pretoria, Republic South Africa: ARC Grain Crops Institute, Departament of Agriculture, 2008. 20 p.

EL-HAMDAOUI, A; REDONDO-NIETO, M.; RIVILLA, R.; BONILLA, I.; BOLAÑOS, L. Effects of boron and calcium nutrition on the establishment of the *Rhizobium leguminosarum-pea* (*Pisum sativum*) symbiosis and nodule development under salt stress. **Plant, Cell and Environment**, Nottingham, v. 26, p. 1003–1011, 2003.

EMBRAPA. **EMBRAPA milho e sorgo**. Sete Lagoas, 2008.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Mineral nutrition of plants:** principles and perspectives. 2. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2005. 400 p.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas:** princípios e perspectivas. 2. ed. . Tradução de Maria Edna Tenório Nunes. Londrina: Editora Planta, 2006. 400 p.

FRANCO, A. A. N. **Marcha de absorção e acúmulo de nutrientes na cultura do sorgo**. 2011. 74 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, 2011.

FRANCO, H. C. J.; LAVRES JUNIOR, J.; OLIVEIRA JUNIOR, O.; MATIAS, G. C. S.; CABRAL, C. P.; MALAVOLTA, E. Optimum ratio of calcium and boron in the nutrient solution or in castor bean shoot for fruit yield and seed oil content. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 35, n. 3, p. 413-427, 2012.

FONSECA, I. M.; PRADO, R. M.; ALVES, A. U.; GONDIM, A. R. Crescimento e nutrição do sorgo (cv. BRS 304) em solução nutritiva. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 8, n. 2, p. 113-124, 2008.

FOX, R. L;. LOWER, R.; WARNER, R. M. **Nitrogen and potassium interact to shape a yield response surface, illustrated concepts in tropical agriculture.** A series prepared by the Department of Agronomy and Soil Science College of Tropical Agriculture and Human Resources University of Hawai. n. 19, 1980

GARDNER, J. C.; MARANVILLE, J. W.; PAPAROZZI, E. T. Nitrogen use efficiency among diverse sorghum cultivars. **Crop Science**, Madison, v. 34, p. 733-737, 1994.

KARP; G. **Biologia Celular e Molecular**. 3ªed. editora Manole, 2005.

LAVRES JUNIOR, J. **Combinações de doses de nitrogênio e potássio para o capim-mombaça**. 2001. 103 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

LAVRES JUNIOR, J.; MONTEIRO, F. A. Perfilhamento, área foliar e sistema radicular do capim-mombaça submetido a combinações de doses de nitrogênio e potássio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, p. 1068-1075, 2003.

LITTEL, R. C.; MOTT, G. O. Computer assisted design and analysis of response surface experiments in agronomy. **Proceedings of the Soil and Crop Society of Florida**, Ann Arbor, v. 34, n. 1, p. 94-97, 1975.

MACHADO, E. C.; SCHMIDT, P. T.; MEDINA, C. L. RIBEIRO, R. V. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 40, n. 12, p. 1161-1170, 2005.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. **Ecofisiologia da produção de sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2003. (Comunicado Técnico, 87).

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; RODRIGUES, J. A. S. **Ecofisiologia, sistema de produção**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2000. v. 2.

MAGALHÃES, P. C. DURÃES, F. O. M.; SCHAFFERT; R. B. **Fisiologia da planta do sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2000. 46 p. (Circular Técnica, 3).

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 631 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas:** princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319 p.

MALAVOLTA, E.; BASSO, L. C.; OLIVEIRA, E. G. de; VASCONCELLOS, C. A.; SANTOS, Z. G.; FORTES, J. M. J. Estudos sobre a nutrição mineral do milho. II. Efeito de doses crescentes de N, P e K no crescimento, produção ε composição mineral da variedade piranão em condições controladas. **Anais da ESALQ**, Piracicaba, v. 33, p. 479-499, 1976.

MARANVILLE, J. W.; MADHAVAN, S. Physiological adaptations for nitrogen use efficiency in sorghum. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 245, n. 1, p. 25-34, 2002.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of highter plants**. 3. Ed. San Diego: Academic Press, 2012. 615 p.

MAY, A.; MENDES, S. M.; SILVA, D. D.; PARRELLA, R. A. C. **Cultivo de sorgo sacarino em áreas de reforma de canaviais**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2013. 36 p. (Circular Técnica, 186).

MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. **Principles of plant nutrition**. 5. ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001. 849 p.

MINOLTA CAMARA Co. **Manual for chlorophyll meter Spad - 502**. Osaka, 1989. 22 p.

MULDER, E. G.; BOXMA, R.; VAN VENN, W. L. The effect of molybdenum and nitrogen deficiences on nitrate reduction in plant tissue. **Plant and Soil,** Dordrecht, v. 207, p. 335-355. 1959.

MUÑOZ-HUERTA, R. F.; GUEVARA-GONZALEZ, R. G.; CONTRERAS-MEDINA, L. M.; TORRES-PACHECO, I.; PRADO-OLIVAREZ, J.; OCAMPO-VELAZQUEZ, R. V. A review of methods for sensing the nitrogen status in plants: advantages, disadvantages and recent advances. **Sensors**, Basel, v. 13, n.8, p. 10823-10843, 2013.

NASCIMENTO, V. M.; NEPTTUNE, A. M. L.; ZANINI, J. R.; SARRUGE, J. R. Produção de matéria seca e absorção de nutrientes pelo sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* (L.) Moench em Latossolo roxo. **Científica**, Jaboticabal, v. 16, n. 1, p. 21-28, 1988.

PHOLSEN, S.; SOMNSUNGNOEN, N. Effects of nitrogen and potassium rates and planting distances on growth, yield and fodder quality of a forage sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). **Pakistan Journal of Biological Sciences**, New York, v. 7, n. 10, p. 1793-1800, 2004.

PRADO, R. M.; ROZANE, D. E.; VALE, D. W.; CORREIA, M. A. R.; SOUZA, H. A. **Nutrição de plantas**: diagnose foliar em grandes culturas. 1.ed. Jaboticabal: FCAV/CAPES/FUNDUNESP, 2008. 301 p.

REGASSA, T. H.; WORTMANN, C. S. Sweet sorghum as a bioenergy crop: literature review. **Biomass and Bioenergy**, Amsterdam, v. 64, p. 348-355, 2014.

RESENDE, A. V.; COELHO, A. M.; RODRIGUES, J. A S.; SANTOS, F. C. **Adubação maximiza o potencial produtivo do sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. 8 p. (Circular Técnica, 119). Disponível em: http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/publica/2009/circular/Circ_119.pdf.

ROSOLEM, C. A.; MALAVOLTA, E. MACHADO, J. R. Estudos sobre a nutrição mineral do sorgo granífero. IX – Efeitos do potássio. **Anais da ESALQ**, Piracicaba, v. 37, p. 143-155, 1980.

ROSOLEM, C. A.; MALAVOLTA, E.; NAKAGAWA, J. Estudos sobre a nutrição mineral do sorgo granífero. VII - efeitos do nitrogênio. **Anais da ESALQ**, Piracicaba, v. 37, p. 33-47, 1980.

SANTOS, F. C.; ALBUQUERQUE FILHO, M. R.; RESENDE, A. V.; OLIVEIRA A. C.; GOMES, T. C.; OLIVEIRA, M. S. Adubações nitrogenada e potássica no sorgo biomassa - produtividade e qualidade de fibra. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 13, n. 1, p. 1-13, 2014.

SARRUGE, J. R. Soluções nutritivas. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v.1, p.231-233, 1975.

SAS Institute. **SAS/ STAT:** SAS – System for Windows 6.11. Cary, NC, 1996.

SAS Institute. **SAS/ STAT:** SAS – System for Windows 9.3. Cary, NC, 2011.

SILVEIRA, J. A. G. **Aspectos bioquímicos e fisiológicos da relação K/N em cana-de-açúcar (*Saccharum* SP) cv. NA- 5679 cultivada em solução nutritiva.** 1980. 127f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1980.

SHAMS, M.; ETEMADI, N.; BANINASAB, B.; RAMIN, A. A.; KHOSHGOFTARMANESH, A. H. Effect of boron and calcium on growth and quality of '*easy lover'* cut rose. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 35, p. 1303-1313, 2012.

SOUZA, A. P.; GASPAR, M.; SILVA, E. A.; ULIAN, E. C.; WACLAWOVSKY, A. J.; ISHIYAMA JUNIOR, M.; SANTOS, R. V.; TEIXEIRA, M. M.; SOUZA, G. M.; BUCKERIDGE, M. S. Elevated CO_2 increases photosynthesis, biomass and productivity, and modifies gene expression in sugarcane. **Plant, Cell and Environment**, Nottingham, v. 31,n.8, p. 1116–1127, 2008.

TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 719 p.

UCHINO, H., WATANABE, T.; RAMU, K; SAHRAWAT K. L., MARIMUTHU, S.; WANI, A. P. Calibrating chlorophyll meter (spad-502) reading by specific leaf area for estimating leaf nitrogen concentration in sweet sorghum. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 36, n. 10, p. 1640-1646, 2013.

USDA. Natural Resources Conservation Service. ***Sorghum bicolor* (L.) Moench**. Tucson: Tucson Plant Materials Center, 2013. Disponível em: http://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_PLANTMATERIALS/publications/azpmcpg11583.pdf.

VIANA, E. M.; KIEHL, J. C., Doses de nitrogênio e potássio no crescimento do trigo. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 4, p. 975-982, 2010.

VIEIRA, E. L.; SOUZA, G. S.; SANTOS, A. R.; SILVA, J. S. **Manual de fisiologia vegetal**. São Luís: Ed. EDUFMA, 2010. 230 p.

RÉGENT INSTRUMENTS. **WinRHIZO**. v. 4. 1c Reference. Québec, Canada, 1999. 51 p.

ZEHIROV, G.; GEORGIEV, G. Effects of boron starvation on the apoplastic and total solute concentration influencing nodule growth and acetylene reduction rate. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, Sofia, n. esp., p. 367-373, 2003.

ZHAO, D.; REDDY, K. R.; KAKANI, V. G.; REDDY, V. R. Nitrogen deficiency effects on plant growth, leaf photosynthesis, and hyperspectral reflectance properties of sorghum. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 22, p. 391-403, 2005.

ZORB, C.; SENBAYRAM, M.; PEITER, E. Potassium in agriculture - Status and perspectives. **Journal of Plant Physiology,** Stuttgart, v. 171, p. 656-669, 2013.

ANEXOS

Anexo A - Tabela da média das alturas e diâmetros das plantas de sorgo submetido a combinações de doses de N e K na solução nutritiva.

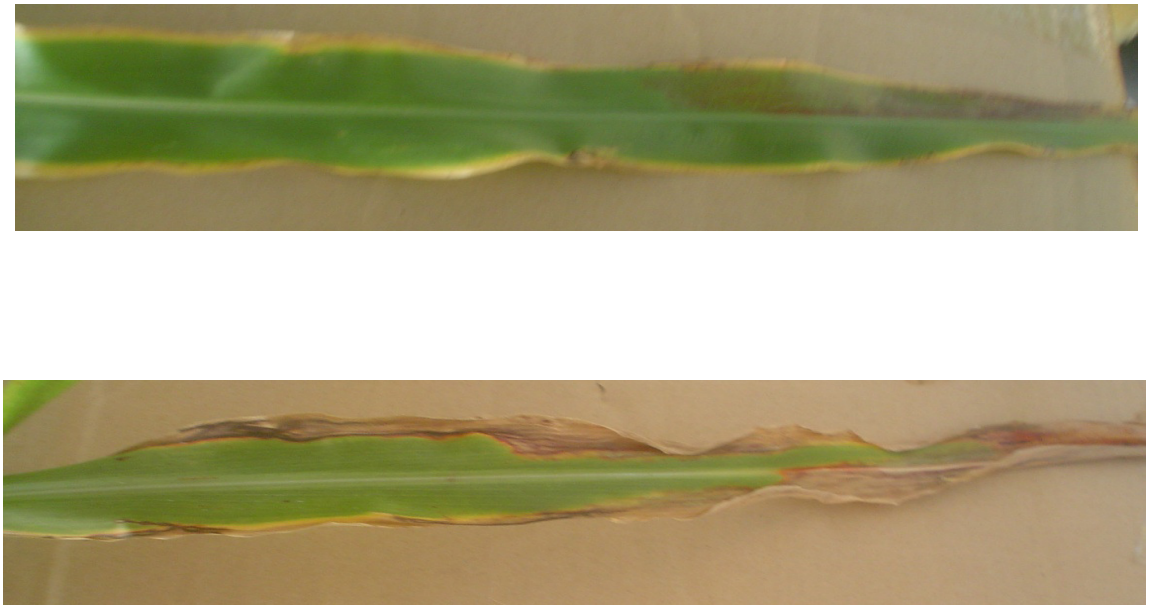
Tratamento	altura (cm)	diâmetro (mm)
28N 19,5K	136,43	7,633
28N 234K	150,80	6,898
28N 429K	124,95	7,348
112N 117K	145,00	7,805
112N 312K	150,33	8,445
210N 19,5K	170,00	6,653
210N 234K	155,83	8,068
210N 429K	153,98	10,220
336N 117K	177,43	9,753
336N 312K	151,95	8,723
462N 19,5K	146,33	7,733
462N 234K	151,30	8,005
462N 429K	155,18	9,410

Observação: Os valores da altura e diâmetros foram obtidos com a diferença entre a medida inicial e final do experimento.

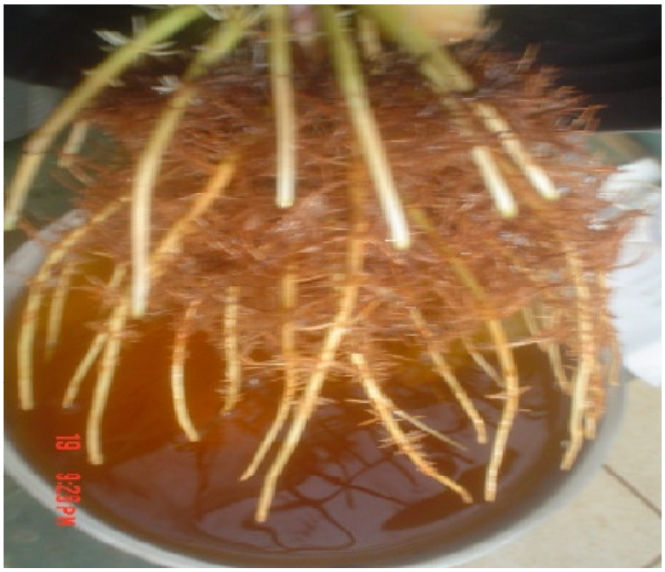
Anexo B –Resultados da determinação de N e K nas sementes de sorgo sacarino.

	Nitrogênio	Potássio
amostras	$g.kg^{-1}$	[]K g/kg
1	9,24	3,85
2	9,8	3,08
3	8,82	3,85
4	8,68	3,85

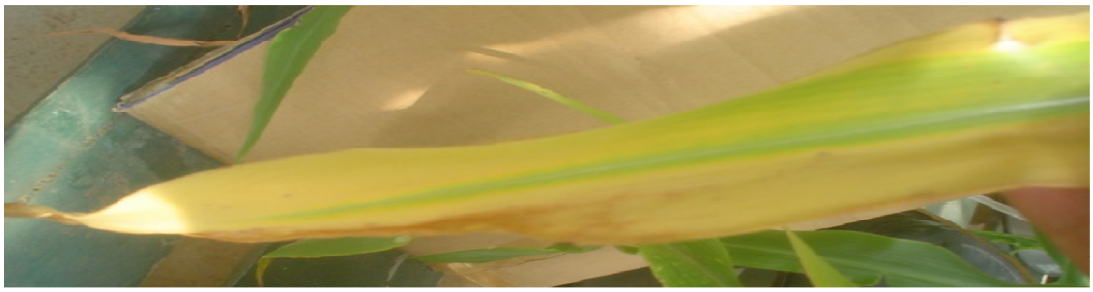
Anexo C – Sintoma de deficiência de K nas folhas da combinação 28N/ 19,5K.



Anexo D -Imagem da raiz e exsudatos na solução do tratamento 28N/ 429K



Anexo E - Deficiência de N na combinação 28N/ 429K



Anexo F - Sintoma de deficiência de Mg em sorgo sacarino BRS 506 na combinação 112N/ 312K.