

# CONTRIBUIÇÃO AO SIGNIFICADO FISIOLOGICO DA RELAÇÃO Ca/K EM GERGELIM (*Sesamum indicum* L.)

Tese apresentada à Escola Superior de  
Agricultura «Luiz de Queiroz» da Univer-  
sidade de São Paulo, para obtenção do  
título de «Magister Scientiae» em  
Nutrição de Plantas.

HERNAN CARDOZO GUTIERREZ  
BOTÂNICO

PIRACICABA — SÃO PAULO — BRASIL

1968

A meus pais

À minha espôsa

À minha filha

Em especial agradeço ao Professor

OTTO JESU CRÓCOMO

pela sugestão do tema

pela orientação no desenvol-

vimento desta tese

Agradeço às Seguintes Pessoas e Instituições

Prof. Eurípedes Malavolta

Eng.<sup>o</sup>-Agr.<sup>o</sup> Décio Barbin

Eng.<sup>o</sup>-Agr.<sup>o</sup> Luiz Gonzaga Santoro

Acad. Luiz Carlos Basso

Acad. Gilberto Dinis de Oliveira

Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Universidade de São Paulo - Brasil

Organização dos Estados Americanos

Universidad Nacional de Colombia

Instituto Interamericano de Ciências Agrícolas

Zona Sul - Uruguai

Fundo de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

Instituto Colombiano de Especialización Técnica en el Exterior

## C O N T E Ú D O

1 - Introdução .....	1
2 - Revisão da Literatura .....	4
3 - Material e Métodos .....	6
4 - Resultados e Discussão .....	16
5 - Resumo e Conclusões .....	36
6 - Summary .....	38
7 - Literatura Citada .....	41

## 1 - INTRODUÇÃO

Para o desempenho de suas funções, as plantas normalmente necessitam de certos elementos químicos no meio em que vivem. Tais elementos vitais se agrupam em duas categorias: macronutrientes e micronutrientes, segundo a ordem de grandeza em que são utilizados. Entre os macronutrientes há o cálcio e o potássio os quais atuam individualmente ou em conjunto desenvolvendo diversas funções nos processos biológicos.

Várias dificuldades foram encontradas para se investigar o papel do cálcio nas plantas. Entre as funções mais conhecidas está a de atuar na hidratação e permeabilidade do protoplasma (cf. Lundegardh, 1966). O cálcio e o potássio se encontram em grande parte sob forma iônica, o que faz com que tomem parte no balanço ácido-base das células. Um excesso de cálcio ou de carbonato de cálcio nos solos causam distúrbios metabólicos em muitas plantas. Lundegardh (1966) cita vários trabalhos sobre o excesso produzindo amarelecimento (clorose) das folhas. Nestas plantas o ácido cítrico tende a aumentar consideravelmente. As plantas que crescem em solos calcáreos produzem ácido málico para neutralizar os cationios. Os ácidos oxálico e cítrico também tendem a fixar bases, porém somente aparecem em grandes quantidades naquelas plantas que não são capazes de prevenir um excesso de absorção de carbonatos; nesse caso costuma-se falar de enfermidade do ácido cítrico ou calciose.

Jones e Lunt (1967), agrupam as funções do cálcio em três casos principais: nas estruturas celulares, nos processos fisiológicos e na manutenção da configuração de enzimas.

O potássio por sua vez é o mais abundante dos cationios nas células (vide Malavolta, 1967). Apesar desse fato, pouco se conhece com precisão sobre suas funções na vida das plantas. Essa dificuldade se baseia em sua extrema mobilidade e em que não se combina permanentemente com compostos orgânicos.

Não obstante, existem inumeráveis trabalhos indicando que o potássio intervém no metabolismo das plantas. Ao que parece o potássio participa na fotossíntese (Fujiwara e Iida, 1957); intervém na síntese do amido. A ausência de potássio produziria distúrbios nas velocidades relativas de síntese e de degradação de carboidratos, afetando por conseguinte a translocação dos mesmos (Noguchi e Sugawaya, 1957). O metabolismo dos ácidos orgânicos está ligado à ação do potássio (Jones, 1961; DeKock, 1964; Freedman, 1967; Carles, 1960). O potássio intervém no metabolismo dos compostos nitrogenados (Coleman, 1962), afetando a redução de nitratos e a síntese de proteínas; a sua deficiência nas plantas provoca altos níveis de nitrogênio orgânico solúvel, como aminoácidos e amidas (Fujiwara e Iida, 1957). Sua deficiência provoca acúmulo de aminas como a putrescina e a agmatina, que resultam da descarboxilação respectivamente de ornitina e arginina, que ocorre nessas condições (Crocomo e Rossi, 1967; Crocomo et al, 1968).

Além de desempenharem funções próprias, o cálcio e o potássio interagem. DeKock (1964) observa que a formulação da "lei do potássio-calcáreo" feita por Ehrenburg em 1919 estimulou a investigação sobre as interrelações entre os dois nutrientes. O principal desses fenômenos é o "antagonismo iônico". Daí a importância de se manter um balanço quantitativo entre os diferentes catiônios para preservar as funções normais do protoplasma (Lundegardh, 1966). O antagonismo iônico está ligado à carga e à hidratação dos iônios: o cálcio, por exemplo, está mais firmemente ligado que o potássio nos espaços intercelulares ou nas membranas protoplasmáticas. Por outro lado, muita atenção tem sido dedicada à ação competitiva de ambos os catiônios em relação à hidratação dos coloides protoplasmáticos. Uma revisão completa sobre o assunto pode ser encontrada em Bussler (1964). Lundegardh (1966) relaciona este fenômeno com o potencial de superfície

ou absorção de íônios pelas células, especialmente nas zonas radiculares.

Quanto à absorção e translocação desses catiônios há um considerável número de publicações estudando esses aspectos em função do antagonismo (Overstreet et al. , 1952 ; Jacobson et al. , 1960 ; Resnik et al. , 1966; Wallace et al. , 1966) .

A relação Ca/K também tem sido objeto de pesquisas quanto aos ácidos orgânicos . DeKock (1964) estudou o seu efeito sobre os níveis dos ácidos cítrico , málico e oxálico. O metabolismo do nitrogênio também é afetado por essa relação (Steward e Preston , 1941 ; Steward et al. , 1959 ; Steward e Durzan , 1965) .

Com base nas considerações feitas acima, o presente trabalho pretende contribuir para o conhecimento das interações Ca/K com alguns compostos de gergelim (Sesamum indicum L.) , perseguindo os seguintes objetivos:

1. Avaliar o crescimento das plantas em função dos nutrientes absorvidos ;
2. Estudar o efeito da relação Ca/K sobre o teor de alguns ácidos orgânicos ;
3. Estudar as interrelações de Ca/K com alguns compostos nitrogenados.

## 2 - REVISÃO DA LITERATURA

Da literatura existente sobre o gergelim foram selecionados trabalhos referentes à nutrição mineral, ácidos orgânicos e aminoácidos.

Não se conhece muito sobre a nutrição de Sesamum indicum L. McCulloch (1931) chamou a atenção sobre o alto conteúdo de cálcio (1,22%) e fósforo (1,39%) em sementes de gergelim. Nesse mesmo sentido, Dey e Friedman (1951) atribui seu alto valor nutritivo às sementes dessa planta, encontrando 46,8 % e 61,7% de oxalato de cálcio, respectivamente em sementes brancas e pretas de Sesamum.

Um grupo de pesquisadores japoneses realizou diversos trabalhos relacionados com a migração de alguns macronutrientes. Ishibara e Yatazawa (1953) empregando radiofósforo, estudaram sua distribuição dentro da planta, encontrando um acúmulo máximo no ápice, flores e sementes. Zenzaburo et al. (1957) utilizando o mesmo radioisótopo acompanharam sua localização em função da luminosidade; o fósforo retido no caule, brotos e folhas variava segundo as condições de luz; por outro lado, o fósforo retido nas raízes é independente desse fator. Os mesmos pesquisadores empregaram ainda diferentes doses de  $^{32}\text{P}$ : deficiente, normal e excesso em plantas cultivadas em areia; aos 40 dias de idade as plantas foram submetidas aos tratamentos. A distribuição do radiofósforo foi acompanhada periodicamente, observando-se que havia um acúmulo nos frutos e sementes, obedecendo uma ordem decrescente de acordo com a dose: completo, deficiente e excesso de  $^{32}\text{P}$ . Neste último caso, o acúmulo nas folhas e caule fora maior que nos frutos.

Em relação ao fósforo e magnésio o trabalho de Zenzaburo et al. (1956) mostrou que a absorção e a translocação de fósforo era diminuída pela deficiência de magnésio; este cátion estaria comprometido na translocação do fósforo das folhas para os frutos e das cápsulas para as sementes.

Mais recentemente, Bascones e López (1961) realizando experimentos em solução nutritiva, encontraram os níveis mínimos de macronutrientes, abaixo dos quais aparecem os sintomas de deficiência: a análise das folhas colhidas no estágio de formação dos frutos determinou os seguintes níveis mínimos: 2% N , 0,2% P, 0,88% K , 0,6% Ca e 0,15% Mg . Em um segundo experimento encontraram que a extração total de N P K pelas plantas ocorria aos 60 dias de idade; ao mesmo tempo o peso total das plantas começara a diminuir.

Quanto aos aminoácidos existem algumas publicações: Block e Bolling (1945) detectaram doze aminoácidos em sementes de gergelim: arginina , lisina , triptofano , cisteína , treonina , leucina , isoleucina , histidina , tirosina , fenilalanina , metionina e valina. Villademar et al. (1956) identificaram em S. orientale os mesmos aminoácidos com exceção de cisteína e tirosina. Taira e Taira (1964) , empregando técnicas microbiológicas, encontraram dezoito aminoácidos em sementes de gergelim.

### 3 - MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 - Germinação

Na realização do experimento foram usadas sementes de gergelim (Sesamum indicum L.) , de cor marrom claro ; as plantas adultas não apresentavam ramificações.

A semeadura foi feita em areia lavada, e as plantinhas, a partir do momento da germinação foram mantidas em presença de luz. Aos 10 dias de idade foram transplantadas para solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) modificada, com arejamento constante. A concentração em sais dessa solução foi de início 1/2 da completa ; dez dias depois a concentração foi diminuída para 25% .

#### 3.2 - Instalação do Experimento

Plantas com 33 dias de idade foram selecionadas e colocadas nas respectivas soluções nutritivas em estudo (Tabela 1) , na relação de uma planta por litro de solução. O delineamento experimental constou de 3 tratamentos e 3 repetições. Os tratamentos corresponderam a 3 níveis de potássio e 3 níveis de cálcio: 46,8 mg K/l e 256 mg Ca/l ; 140,4 mg K/l e 208 mg Ca/l ; 234 mg K/l e 160 mg Ca/l . Este último nível corresponde à solução completa.

#### 3.3 - Colheita das Plantas

Foram realizados 3 amostragens com intervalos de 15 dias a partir da instalação do experimento. As amostragens foram sempre feitas entre 7:00 e 9:00 horas, colhendo-se 6 plantas ao acaso, de cada repetição. Após a determinação de peso fresco, as plantas foram divididas em raízes, caule e folhas. Três plantas eram utilizadas para análise da porção solúvel em etanol, e três para análise de macronutrientes e nitrato.

Tabela 1

Composição das soluções nutritivas utilizadas no experimento

Soluções estoque		ml das soluções estoque/litro das soluções de estudo		
		Ca <sub>1</sub> :K <sub>1</sub> * (I)	Ca <sub>2</sub> :K <sub>2</sub> (II)	Ca <sub>3</sub> :K <sub>3</sub> (III)
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	M	1,0	1,0	1,0
KNO <sub>3</sub>	M	6,0	3,6	1,2
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	M	4,0	5,2	6,4
MgSO <sub>4</sub>	M	2,0	2,0	2,0

Solução de micronutrientes: 1 ml/l ; a solução usada continha (g/l) : H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (2,86) ; MnCl<sub>2</sub> · 4 H<sub>2</sub>O (1,81) ; ZnSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O (0,22) ; CuSO<sub>4</sub> · 5 H<sub>2</sub>O (0,08) ; H<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O (0,02). O ferro foi adicionado sob a forma de Fe-EDTA (1 ml/l).

\* Testemunha igual a solução completa.

### 3.4 - Análise de Macronutrientes

#### 3.4.1 - Preparo do material

O material seco em estufa a 70°C , até peso constante, foi triturado em moinho "Wiley" , com filtro de 20 "mesh" , e mantido em recipiente de plástico.

As determinações de P , K , Ca e Mg foram feitas em alíquotas de extratos obtidos pela digestão de 1 g de material com ácidos nítrico e perclórico (Lott et al. , 1956) . A dosagem de nitrogênio foi realizada em alíquotas obtidas da digestão de 100 mg de material pelo ácido sulfúrico em presença de sulfato de potássio, selenito de sódio e sulfato de cobre.

### 3.4.2.- Métodos analíticos

Nitrogênio: destilação no aparelho de Kirk , seguido por volumetria. (Malavolta , 1957) .

Fósforo: fotolorimetria, baseando-se na formação do ácido fosfovanadomolibdico (Lott et al. , 1956) .

Potássio: fotometria de chama, utilizando-se o espectrofotômetro Beckman , modelo B (Malavolta , 1964) .

Cálcio e Magnésio: volumetria, pelo método do ácido etilendiaminotetracético (EDTA) (Glória et al. , 1965) .

N-NO<sub>3</sub> : 25 mg de material foram utilizados para a solubilização de nitrato em ácido acético. Seguem-se determinação fotolorimétrica baseada na reação de naftilamina e ácido sulfanílico (Iljin , 1951) .

### 3.5 - Substâncias Orgânicas

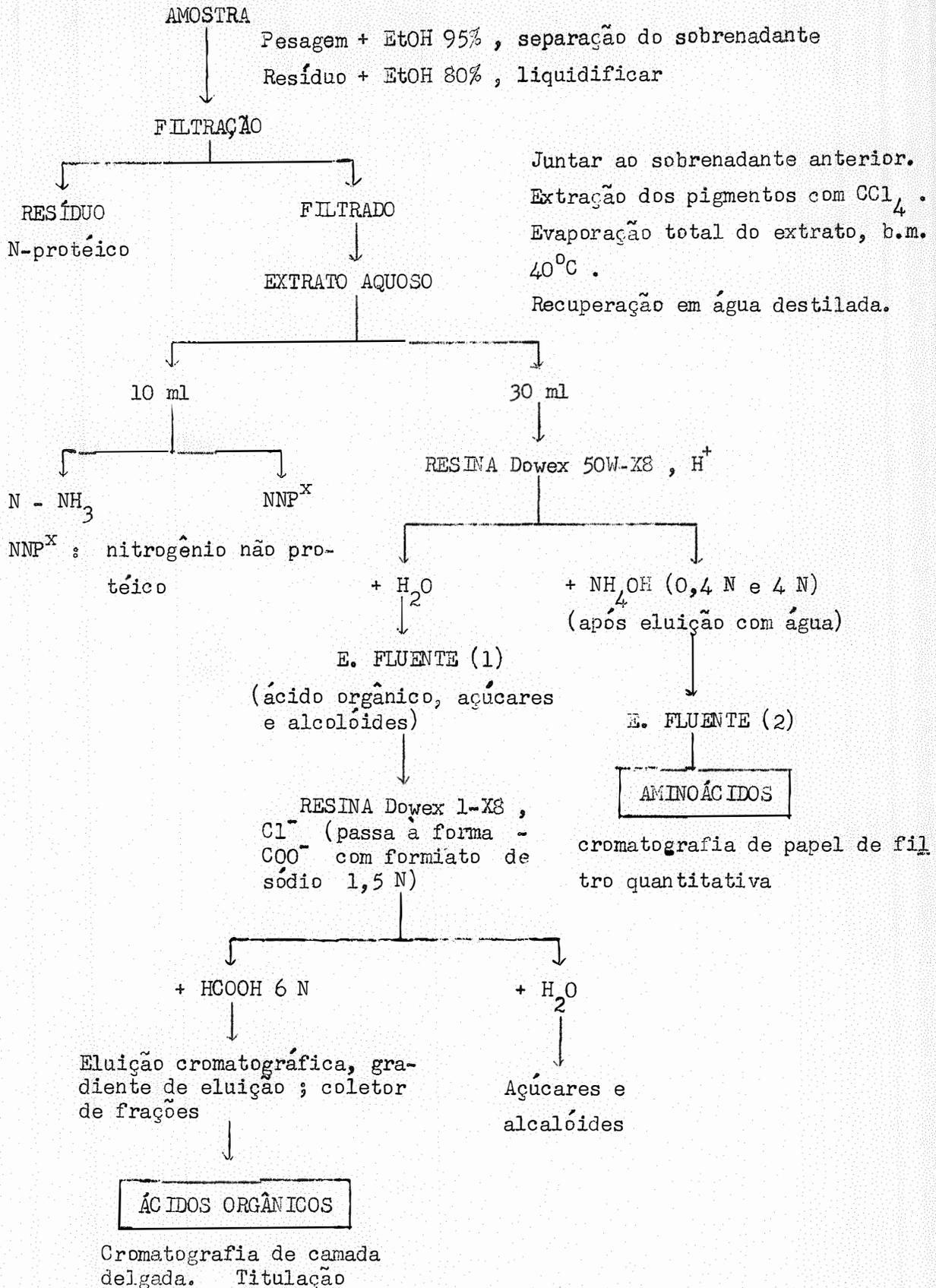
#### 3.5.1 - Obtenção do extrato

Uma vez determinado o seu peso fresco as folhas foram picadas e colocadas em recipientes contendo etanol 95% em ebulição. Após 15 minutos, o etanol foi separado e substituído por etanol 80% , sendo então o material sólido triturado em liquidificador. Após filtração por lã de vidro, o filtrado foi adicionado ao primeiro extrato, seguindo-se então evaporação até resíduo seco, em banho-maria, a 40°C , retomando-se em pequeno volume de água destilada. Os pigmentos foram extraídos com tetracloreto de carbono, e a parte aquosa foi levada a um volume de 40 ml. Um resumo da marcha seguida encontra-se no Quadro 1 .

#### 3.5.2 - Separação das frações

Trinta ml do extrato aquoso foi clareado passando-o em coluna de resina Dowex 50X-8 , 100-200 "mesh" forma H<sup>+</sup> , previamente ativada com HCl 2N,

Marcha para a Obtenção das Frações Orgânicas



com capacidade de 1,2 meq./ml de resina úmida. O fluxo do efluente foi de 1,5 ml/min.

Os ácidos orgânicos foram eluidos com 40 ml de água destilada, a fração sendo concentrada a 20 ml. Os aminoácidos foram separados com 40 ml de  $\text{NH}_4\text{OH} \cdot 4 \text{ N}$ . A fração foi evaporada até resíduo seco em banho-maria, a  $40^\circ\text{C}$ , retomando-se em 3 ml de isopropanol a 10% ligeiramente acidificado.

### 3.5.3 - Análise de ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos foram determinados pela técnica de eluição cromatográfica em resina trocadora de iônios, utilizada por Palmer (1955) e parcialmente modificada no presente trabalho. Como técnica auxiliar na identificação dos ácidos orgânicos foi utilizada cromatografia de camada delgada.

#### 3.5.3.1 - Preparação da resina

A resina Dowex 1-X 8, esférica, 100-200 "mesh", forma  $\text{Cl}^-$ , com capacidade de 1,3 meq./ml de resina úmida, foi tratada previamente do seguinte modo: as partículas mais finas foram removidas suspendendo-se a resina em água destilada, a fim de se eliminar as partículas mais finas; essa operação foi repetida três vezes. Em seguida a resina foi convertida à forma de formiato ( $-\text{COO}^-$ ) passando-se solução de formiato de sódio 1,5 N através da resina contida em uma coluna de vidro para cromatografia, com um fluxo de 2 ml/min., até obter-se teste negativo para cloreto no eluido. Finalmente a resina foi lavada com vários volumes de água, fazendo-se testes para ácido.

#### 3.5.3.2 - Preparação da coluna de resina

Aproximadamente 17 ml de suspensão de resina em água foram colocadas em uma coluna de vidro de 36 cm. de altura por 1 cm. de diâmetro interno, dando uma altura de 5,5 cm. de resina. O extrato aquoso foi adicionado à coluna de resina, seguido de 40 ml de água destilada em várias porções, tomando-se o

cuidado de deixar uma coluna de água de 2 cm. de altura sôbre a resina. A coluna de vidro é então conectada ao vaso misturador para se fazer a eluição cromatográfica.

### 3.5.3.3 - Aparelho de gradiente de eluição

O gradiente de eluição é produzido pela introdução de uma solução concentrada, substância a qual flui com uma velocidade constante dentro de um recipiente inicialmente cheio com o solvente. A mistura resultante flui com a mesma velocidade dentro da coluna de cromatografia.

O aparelho de gradiente de eluição usado por Palmer (1955) foi modificado para a realização do presente trabalho. Consiste de um reservatório que contém o eluente (ácido fórmico 6 N, 270 ml), e um frasco misturador que contém inicialmente 200 ml de água desmineralizada. A união entre o frasco do eluente e do reservatório é feita por capilares, e a mistura se faz por agitação magnética. O frasco misturador está unido à coluna por um capilar e um tubo de vidro em forma de Y, o ramo livre deste último unindo-se a um tubo de borracha que está fechado em sua extremidade livre por uma pinça. O frasco que contém o ácido fórmico está em contacto com a pressão atmosférica por meio de dois pequenos orifícios existentes em sua tampa (Figura 1).

Para o funcionamento do aparelho se estabelece de início um sifão com auxílio de uma seringa. A sua agulha é introduzida na parte inferior do tubo de borracha e o êmbolo é descolado lentamente até estabelecer o duplo sifonamento: a) do frasco misturador (B) para a coluna (D); e b) do frasco eluente (A) ao frasco misturador. A velocidade do fluxo da coluna é determinada pela altura do líquido da coluna e o tempo de operação do coletor de frações. Para se obter o fluxo de 2 ml/min., utilizado no trabalho, o líquido da coluna, uma vez estabelecido o sifão, é levado a uma altura de 5 cm. O nível do eluen-

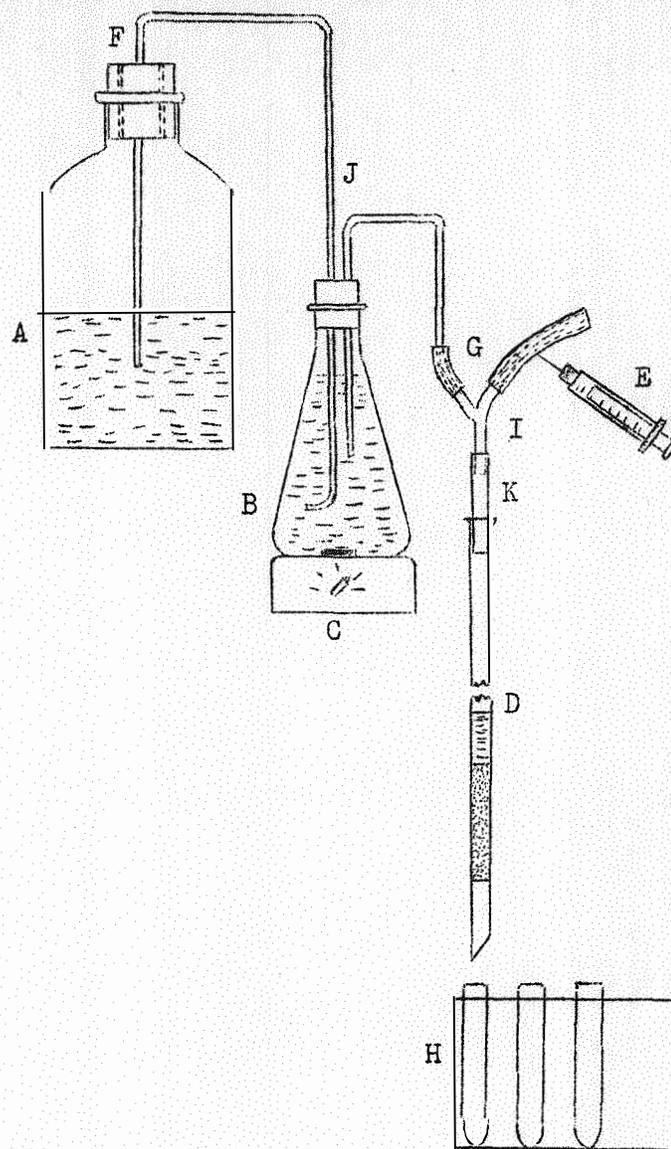


Figura 1 - Gradiente de Eluição - A - reservatório ; B - frasco misturador ; C - agitador magnético ; D - coluna cromatográfica contendo a resina ; E - seringa para se estabelecer o sifão ; F - orifícios para contrôlo da pressão (5 mm de diâmetro) ; G - conexões flexíveis de latex ; H - parte do coletor de frações ; I - tubo de vidro em Y ; J - tubos capilares, ; K - conexão de borracha.

te no frasco A deve ser constante, o que se consegue adicionando-se ácido fórmico em intervalos de 30 minutos por um dos orifícios da tampa desse frasco ; esse nível também pode ser mantido constante colocando-se o ácido fórmico em um funil de separação o qual se liga ao frasco A por meio de um de seus orifícios, deixando cair o líquido lentamente.

#### 3.5.3.4 - Análise do efluente

Os ácidos orgânicos do efluente foram assim identificados: a) pela sequência de sua posição no eluido da coluna de resina, comparando-se com o método de Palmer (1955) ; b) pelo Rf das manchas nas placas de cromatografia de camada delgada ; c) por cristalização ou precipitação, comparando-se com padrões. A ordem de eluição dos ácidos orgânicos foi a seguinte: ácido succínico , ácido málico , ácido cítrico e ácido fumárico. Os dois primeiros saem muito próximos ; nesse caso foram identificados pelo Rf e cristalização.

As frações eluidas recebidas no coletor foram colocadas em banho - maria a 40°C , e o ácido fórmico foi evaporado com auxílio de uma corrente de ar filtrado, sob baixa pressão.

Para a determinação dos ácidos, a cada tubo coletor, após a evaporação do ácido fórmico, foram adicionados 2 ml de água destilada livre de CO<sub>2</sub> . Em seguida, o ácido foi titulado, com NaOH 2 x 10<sup>-3</sup> N , em presença de indicador vermelho de fenol.

#### 3.5.3.5 - Cromatografia da camada delgada

Na preparação das cromatoplasmas foram usadas lâminas de vidro de 20 x 20 cm. , seguindo-se as indicações de Lees e Muria (1962) . A sílica-gel foi preparada com etanol a 80% ao qual se adicionou 2 a 3 ml de acetona.

Tanto as amostras como os padrões foram dissolvidos em etanol 50% , tomando-se aliquotas de 5 microlitros dos padrões para a cromatografia. O desenvolvimento do processo deu-se em 4 horas, usando-se como solvente a mistura n-butanol-ácido acético-água (4:1:1 , v/v/v) . Após seco os ácidos orgânicos foram revelados com solução de azul de bromofenol a 0,05% em etanol 95% , ao qual se adicionaram algumas gotas de NaOH N até cor avermelhada.

### 3.5.4 - Análise de substâncias nitrogenadas

#### 3.5.4.1 - Aminoácidos

Os aminoácidos livres das folhas de gergelim foram identificados e dosadas por cromatografia em papel de filtro, seguida de eluição das manchas com tampão fosfato, pH 7,0 , fazendo-se a leitura em fotocolorímetro Klett-Sumner-son com filtro 540 m $\mu$  .

A cromatografia foi bidimensional, usando-se papel de filtro Whatman N<sup>o</sup> 1 , tendo como primeiro solvente a solução fenol-água (80:20 , p:v), e como segundo solvente a mistura n-butanol-ácido acético-água (4:1:1 , v/v/v) . A revelação foi feita por pulverização com solução de ninhidrina 0,5% em etanol 95% , + 0,1% de 8-hidroxiquinoleína. As manchas correspondentes aos aminoácidos foram cortadas e a eluição feita com o tampão, durante 18 horas no escuro.

A determinação de prolina foi feita segundo o método descrito em Arzolla (1966) , usando cromatografia monodimensional ascendente, tendo como solvente a mistura n-butanol-ácido acético-água (4:1:1 , v/v/v) . A revelação foi feita por imersão dos cromatogramas em uma solução contendo 0,5 g de isatina , 1,5 g de acetato de zinco, 1 ml de ácido acético, 95 ml de isopropanol e 5 ml de água. O cromatograma foi seco em estufa a 80<sup>o</sup>C , durante 15 minutos; a mancha correspondente à prolina foi cortada, lavada em água para eliminar o excesso de isatina, e eluída em 5 ml de fenol saturado com água, durante 30 minutos ao es-

curo. A leitura da intensidade da cor foi feita no fotocolorímetro com filtro de 610 m $\mu$ .

A identificação dos aminoácidos foi feita pelo seu R<sub>f</sub> e por padrões. Recorreu-se em casos especiais também à luz ultravioleta e reações específicas com p-dimetilaminobenzaldeído.

#### 3.5.4.2 - Nitrogênio protéico

100 mg do resíduo da filtração (3.5.1) foram digeridos em balões Kjeldahl e destilados no aparelho de Kirk, seguido por volumetria (Malavolta, 1957).

#### 3.5.4.3 - Nitrogênio total não protéico

Três ml do extrato original (3.5.1) foram desproteinizados com 2 ml de ZnSO<sub>4</sub> 10% e 2 ml de Na(OH) 0,5 N, centrifugados e o sobrenadante foi digerido com ácido sulfúrico 50% e solução saturada de persulfato de potássio. Aliquotas do extrato assim obtido sofreram nesslerização (Crocomo, 1959).

#### 3.5.4.4 - Nitrogênio de amônia livre

Dois ml de extrato original (3.5.1) foram desproteinizados com sulfato de zinco 10% e hidróxido de sódio 0,5 N, em partes iguais, centrifugado, e o sobrenadante sofrendo nesslerização (Crocomo, 1959).

### 3.6 - Análise Estatística

Os dados foram submetidos a análise estatística; calculou-se o coeficiente de variação. Os valores das diferenças mínimas significativas (DMS) foram calculadas pelo Teste de Tukey (Pimentel Gomes, 1966).

#### 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

##### 4.1 - Sintomas Externos das Plantas

Em relação às testemunhas, as plantas dos tratamentos  $Ca_2:K_2$  e  $Ca_3:K_3$  se apresentavam maiores, com as folhas mais claras e um leve amarelamento ; o caule e as raízes eram mais desenvolvidos. Iljin (1951) observou que essa clorose aparece nas folhas de plantas que crescem em solos ricos em carbonatos de cálcio ; essa clorose seria também devido a outros fatores além da assimilação ou utilização do ferro. Fatores como temperatura desfavorável, excesso de água, deficiência de certos sais minerais, ocasionariam distúrbios metabólicos. Haag (1958) observou que o excesso de cálcio envolve a formação de abundantes raízes.

À idade de seis semanas e meia apareceram pequenos pontos necróticos (3-5 mm de diâmetro) nos bordos das folhas basais, nas plantas do tratamento  $Ca_3:K_3$  ; estes pontos aumentavam de tamanho, chegando a juntar-se, em formas irregulares. A medida que a necrose progredia as folhas se encurvavam e se desprendiam 15 a 20 dias depois. Estas observações são semelhantes às registradas na literatura (Bascones e Lopez Ritas , 1961 ; Bussler , 1960) .

Na fase final do experimento (9 semanas) , notou-se um forte ataque de afideos nas plantas de  $Ca_2:K_2$  . Bussler (1964) , citando Remy , chama a atenção para o fato de que o ataque desses insetos é um sintoma biológico da deficiência de potássio na beterraba. Tais plantas não apresentavam sintomas externo de deficiência nesse elemento. Por conseguinte, o ataque dos pulgões indicaria uma "deficiência ou fome oculta" de potássio. É interessante notar que as folhas dessas plantas eram mais pegajosas.

#### 4.2 - Macronutrientes e Crescimento das Plantas

##### A - Ca e K em relação ao crescimento das plantas

Relacionando os tratamentos de Ca/K com o crescimento das plantas, nota-se que as diferentes doses induziram um maior desenvolvimento das mesmas, em relação à testemunha. Essa variação se reflete em um aumento considerável de matéria seca para os tratamentos  $Ca_2:K_2$  e  $Ca_3:K_3$ , o que é facilmente notado pelo gráfico da Figura 2, observando-se também a influência da idade da planta. Entretanto, as variações de matéria seca produzidas por tais doses não diferem entre si.

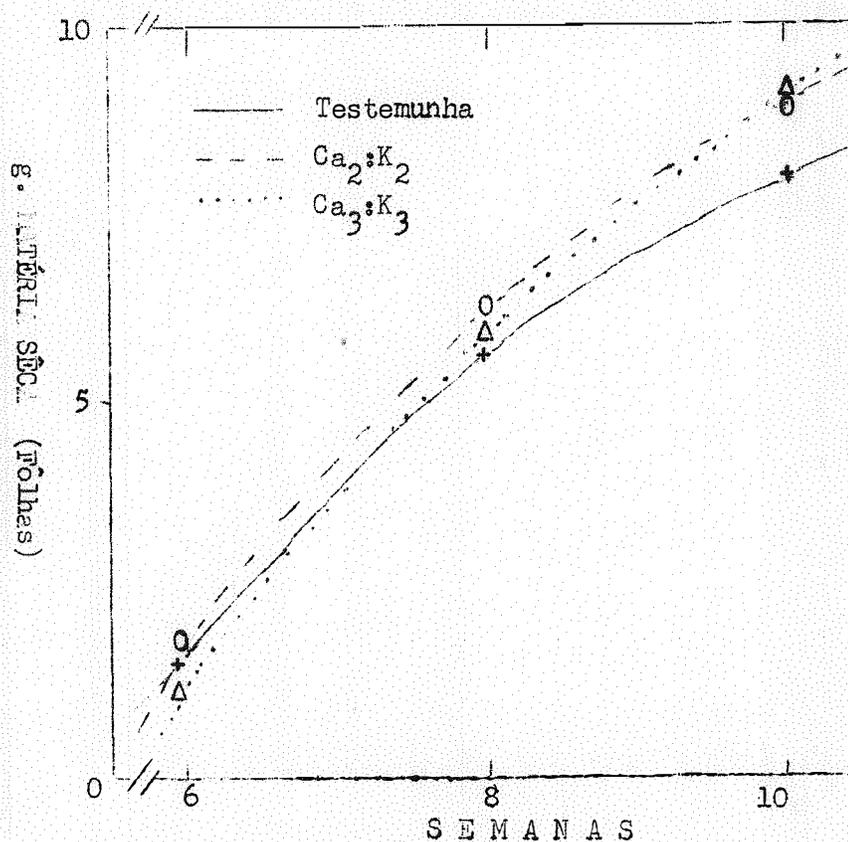


Figura 2 - Aumento no peso seco em folhas de *Sesamum indicum* L., determinado pela relação Ca/K na solução nutritiva e pela idade da planta.

B - Macronutrientes

Os dados da Tabela 2 indicam que nas plantas ocorreram variações no teor de certos elementos. Os valores do cálcio e do potássio são proporcionais às concentrações da solução externa ; ambos os cátions apresentam diferenças significativa a partir da segunda colheita (8 semanas de idade), no tratamento  $Ca_3:K_3$ . O magnésio diminui com o tratamento  $Ca_3:K_3$  na primeira e segunda colheita (6 a 8 semanas de idade) , mas não chega a ser significativo. Os outros nutrientes variam muito pouco com os tratamentos em estudo.

Tabela 2

Efeito de vários níveis de cálcio e de potássio sobre o conteúdo mineral de folhas de Sesamum indicum L.

Idade da planta (semanas)	Tratamento	Porcentagem de peso seco					
		N	P	K	Ca	Mg	
6	$Ca_1:K_1$	5,83	1,11	3,05	1,15	1,13	
	$Ca_2:K_2$	5,70	1,09	3,00	1,19	0,89	
	$Ca_3:K_3$	5,49	1,17	2,38	1,38	0,76	
8		5,16	22,20	12,42	12,41	51,50	C.V.
	$Ca_1:K_1$	5,14	0,88	2,83	1,99	1,34	
	$Ca_2:K_2$	5,10	0,80	2,80	2,54	1,10	
	$Ca_3:K_3$	5,02	0,85	1,09**	3,39**	0,54	
10		4,98	11,31	6,36	9,70	50,20	C.V.
	$Ca_1:K_1$	4,52	0,38	2,43	2,13	0,76	
	$Ca_2:K_2$	3,95	0,51	2,10	3,16*	0,77	
	$Ca_3:K_3$	3,60	0,56	0,71**	4,14**	0,55	
		6,73	7,17	14,20	14,45	30,70	C.V.

\* = diferença significativa ao nível de 5% .

\*\* = diferença significativa ao nível de 1% .

C.V. = coeficiente de variação em percentagem.

#### 4.3 - Ácidos Orgânicos

Na Tabela 3 encontram-se os valores dos ácidos carboxílicos das folhas de gergelim. Comparando-se os tratamentos pode-se facilmente notar que a alta relação  $Ca_3/K_3$  provocou aumento de citrato e fumarato enquanto os ácidos succínico e málico diminuíram (vide também Figuras 3, 4 e 5). Essas variações são mais acentuadas nas plantas com 6 semanas de idade, quando então todos os ácidos acusam diferença significativa em relação à testemunha. Na 10.<sup>a</sup> semana, entretanto, constatou-se aumento no ácido succínico.

O teor dos ácidos estudados é função de sua velocidade relativa de síntese, utilização e translocação. É bem notório que com a diminuição dos níveis de potássio produz-se aumento no teor de cálcio. Segundo Jones (1961) essa observação faz pensar se as variações observadas seriam devidas à deficiência de potássio ou à mudança no balanço de outros íônios.

As variações nos níveis dos ácidos orgânicos analisados são devidas a ação direta ou indireta do potássio no sistema enzimático comprometido nas reações dos ácidos carboxílicos. Em uma visão geral do processo pode-se colocar em pauta o fato de que o fosfoenolpiruvato (PEP) não só se converte em piruvato pela ação de quinase pirúvica, como também pode ser carboxilado para formar ácido oxaloacético pela quinase fosfopirúvica. O ácido málico, por sua vez, pode se formar a partir do ácido oxaloacético pela deshidrogenase málica ou diretamente do piruvato pela enzima málica. Sabe-se que a quinase pirúvica de plantas exige potássio e magnésio para a sua ação (Mc Collum et al., 1956) e portanto a formação de ácido málico em gergelim, através das vias acima indicadas, pode ser afetada consideravelmente.

Segundo Vickery e Palmer (1957), o acúmulo de ácido cítrico pode ser devido a uma lenta utilização, comparando-a com a velocidade de síntese, ou

ainda as rápidas transformações do ácido málico. Por outro lado, as variações nos níveis de succinato e fumarato podem estar relacionadas com as alterações metabólicas do nitrogênio provocadas pelas variações no teor de potássio.

Tabela 3

Efeitos de vários níveis de cálcio e potássio sobre o conteúdo de ácidos orgânicos em folhas de Sesamum indicum L.

Idade da planta (semanas)	Tratamento	Microequivalentes por grama de material seco				
		Succínico	Málico	Cítrico	Fumárico	
6	Ca <sub>1</sub> :K <sub>1</sub>	11,06	40,89	4,50	4,21	
	Ca <sub>2</sub> :K <sub>2</sub>	4,50 **	29,10 **	11,90 **	5,01	
	Ca <sub>3</sub> :K <sub>3</sub>	2,36 **	12,00 **	13,35 **	6,13 **	
8		10,54	5,67	10,69	6,95	C. V.
	Ca <sub>1</sub> :K <sub>1</sub>	5,14	22,50	5,88	3,50	
	Ca <sub>2</sub> :K <sub>2</sub>	4,66	20,48 *	6,42	4,84 **	
10	Ca <sub>3</sub> :K <sub>3</sub>	2,98	18,18 **	7,49 **	5,15 **	
		2,31	2,61	5,08	6,95	C. V.
	Ca <sub>1</sub> :K <sub>1</sub>	6,17	30,22	6,91	3,50	
10	Ca <sub>2</sub> :K <sub>2</sub>	7,48 **	20,64 **	7,38	3,13 *	
	Ca <sub>3</sub> :K <sub>3</sub>	6,64	19,56 **	10,24 **	4,76 **	
		3,06	2,06	10,56	2,96	C. V.

\* diferença mínima significativa ao nível de 5% . C. V. = coeficiente de

\*\* diferença mínima significativa ao nível de 1% . variação em percentagem

Apesar de existir um bom número de informações quanto aos efeitos do potássio sobre o metabolismo de ácidos orgânicos em plantas, os resultados não são uniformes de modo a permitir uma interpretação mais válida das variações ob-

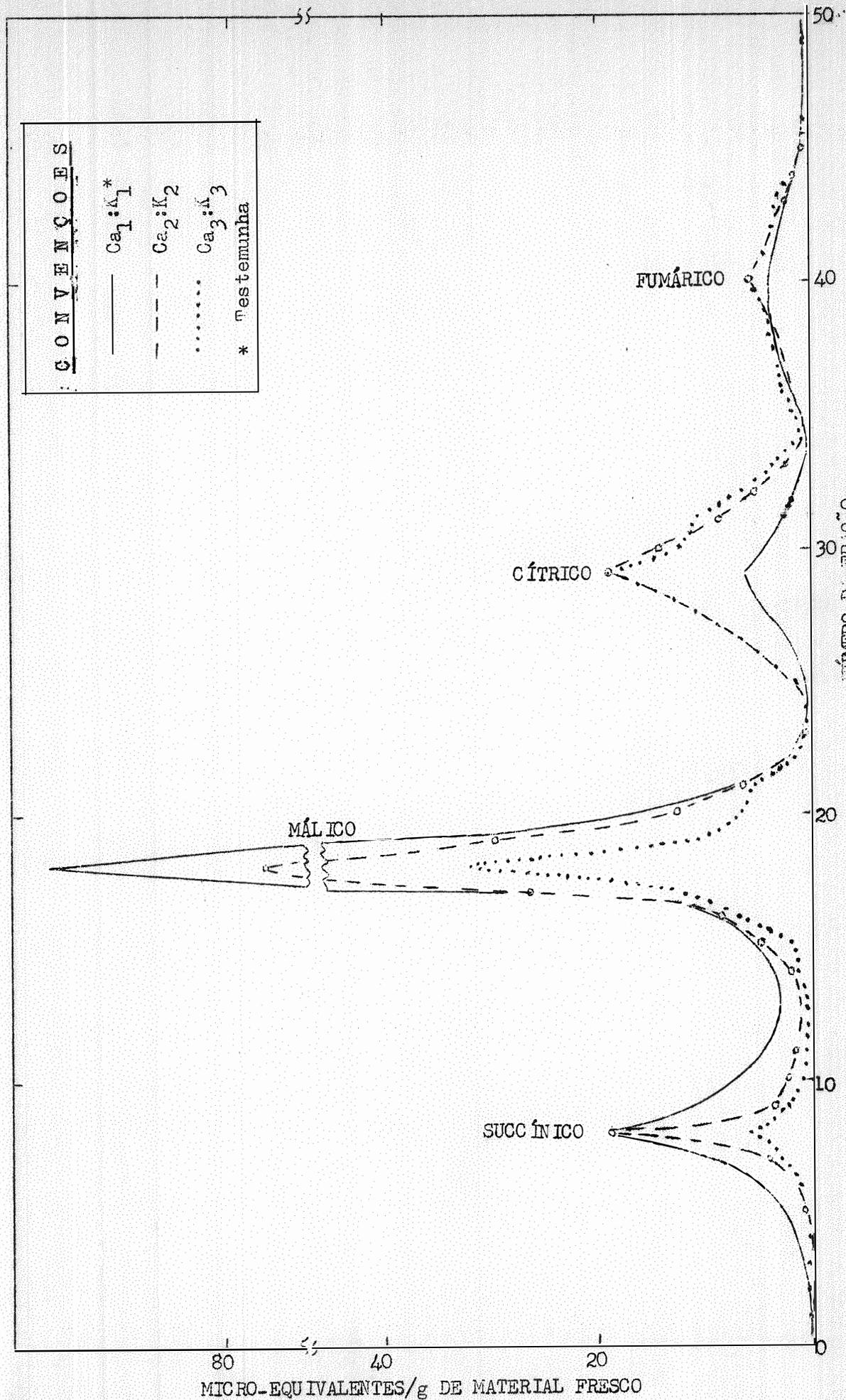


Fig. 3 - Separação de ácidos orgânicos não voláteis em fôlhas de *Sesamin indicum* L., cultivadas sob diferentes doses de cálcio e de potássio na solução externa. Dowex 1-X8, 100-200 "mesh", forma formiato 1 cm Ø 5,5 cm. Gradiente de eluição, ácido fórmico 6.1 no reservatório, velocidade de fluxo 0,83 ml/min. vol. de fração 2,5 ml, 6 semanas de idade.

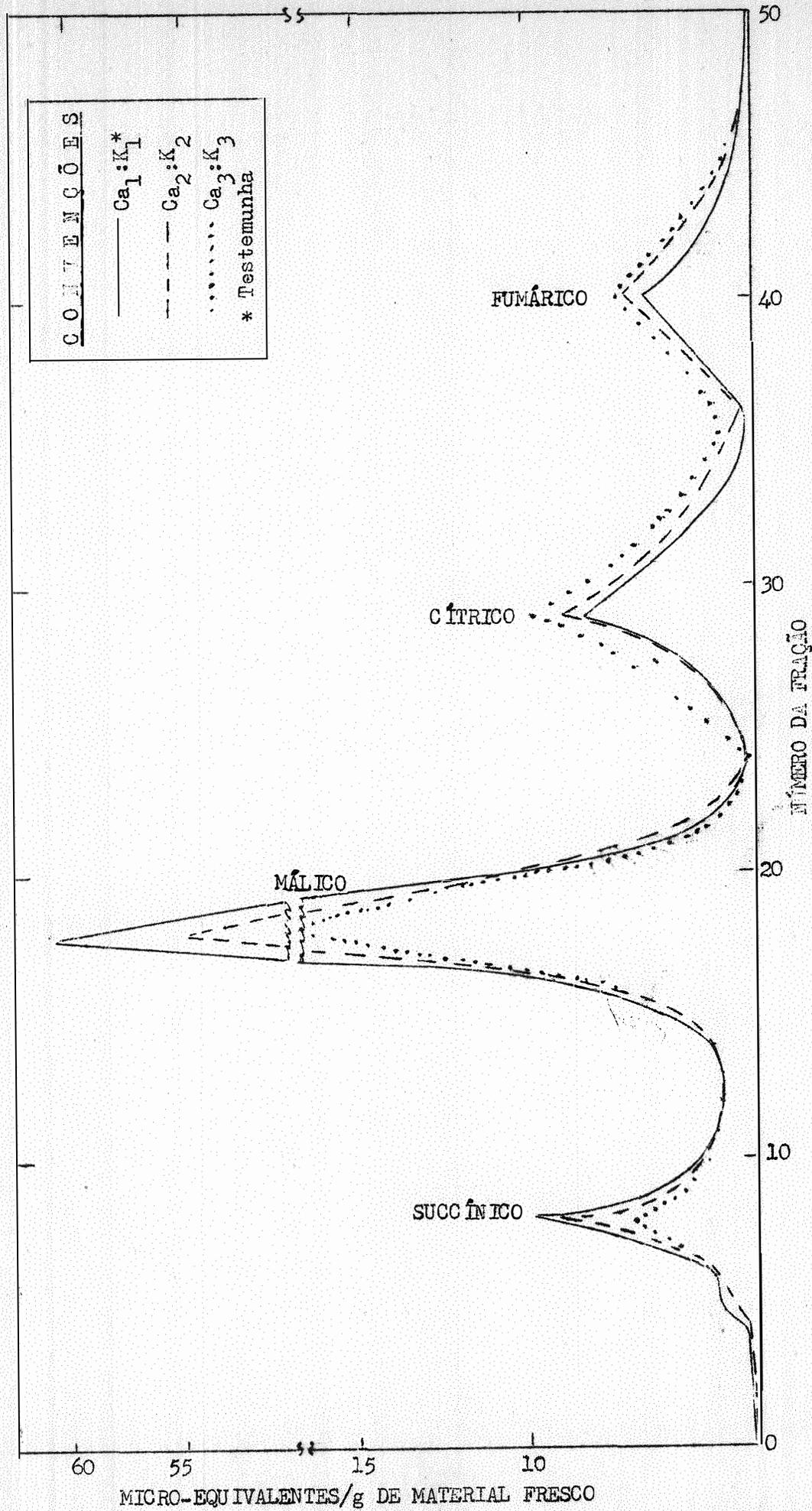


Fig. 4 - Separação por troca iônica de ácidos orgânicos não voláteis em folhas de *Sesamum indicum* L. ; tôdas as condições idênticas às da Figura 3 , 8 semanas de idade.

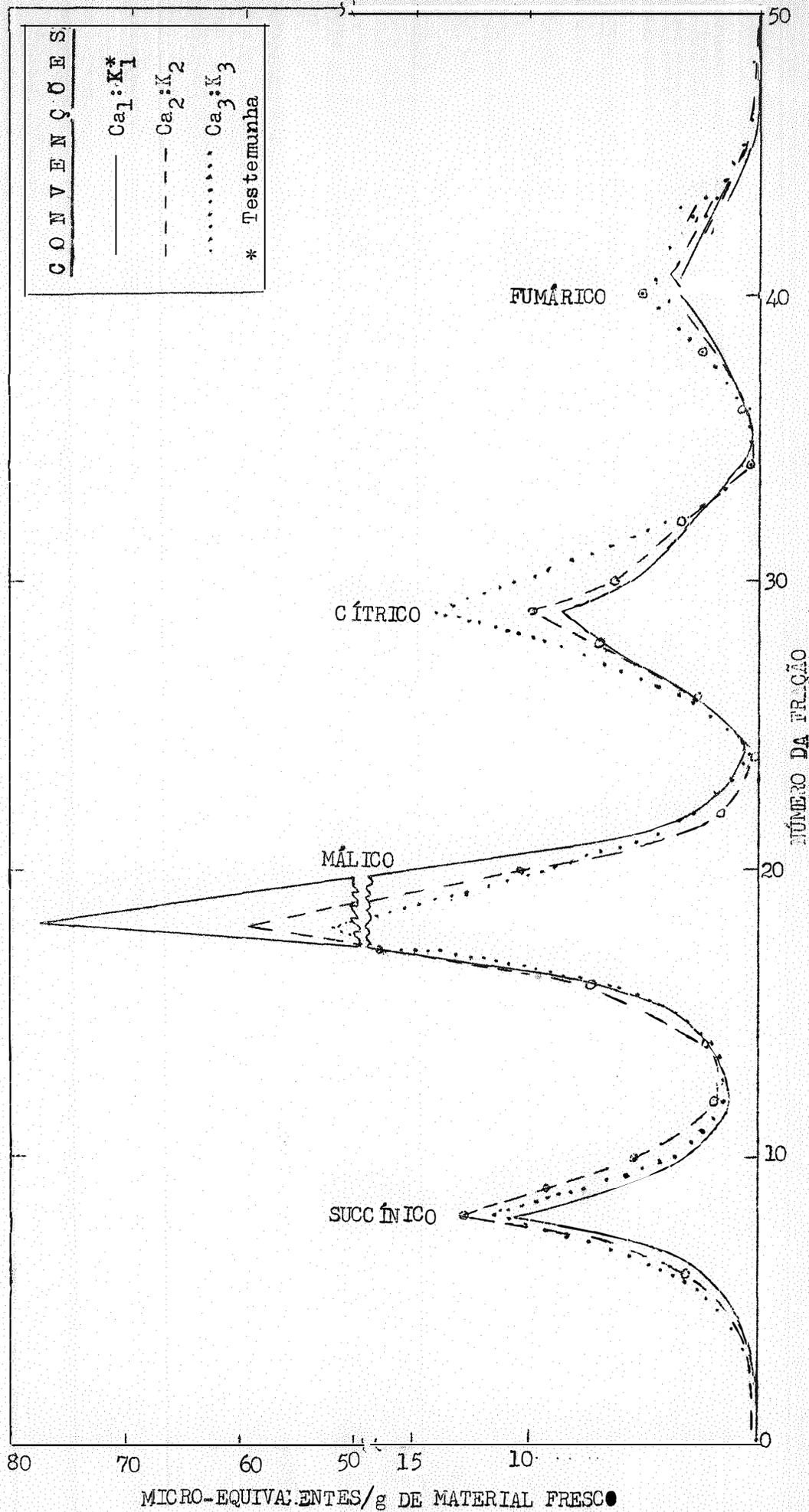


Fig. 5 - Diagrama de eluição de ácidos orgânicos não voláteis em folhas de *Sesamum indicum* L., tôdas as condições idênticas as da Figura 3, 10 semanas de idade.

servadas. Essa disparidade está condicionada, segundo Carles (1960) e Bevers et al. (1966), às espécies, fatores ambientais e à idade da planta. Coic et al., citados por Freeman (1967) encontraram em folhas de Bryophyllum daignenontiaum Berg., deficientes em potássio, uma grande diminuição de ácido málico, acompanhada por um incremento em ácido cítrico e isocítrico. Por sua vez, de seus resultados, Jones (1961) concluiu que a nutrição potássica não tem efeitos sobre o conteúdo total de ácidos orgânicos em folhas de tomate, porém os níveis de malato e citrato, cetoglutarato e glioxilato aumentam na deficiência de potássio. Aliás, Wallace et al. (1966), observaram que o alto conteúdo de ácidos no suco de citrus está correlacionado com o aumento de potássio. Nessa mesma linha de pesquisa, Freeman (1967) estudou o conteúdo de ácidos orgânicos de diversas espécies vegetais, variando os níveis de potássio desde extrema deficiência até alta concentração; a deficiência de potássio em couve, beterraba e batata, produziu aumento no conteúdo total de ácidos orgânicos, enquanto ocorreu uma diminuição em alface e nenhum efeito tendo sido observado em "rye grass" italiano.

#### 4.4 - Substâncias Nitrogenadas

##### A - Aminoácidos

Analisando os dados das Tabelas 4 a, b, c, pode-se observar, que alguns aminoácidos apresentam variações em seus teores, com os diferentes tratamentos Ca/K; os efeitos se fazem sentir com o nível mais baixo (Ca<sub>3</sub>:K<sub>3</sub>). Quanto ao ciclo da planta, os aminoácidos e as outras formas nitrogenadas alcançam os teores mais elevados na 6.<sup>a</sup> semana.

Dos aminoácidos detectados nos cromatogramas os que predominaram foram ácido glutâmico, ácido aspártico, ácido gama-aminobutírico, alanina e a amida glutamina. Dêstes, os três primeiros diminuem com os níveis Ca<sub>2</sub>:K<sub>2</sub> e

Ca<sub>3</sub>:K<sub>3</sub>, apresentando-se diferenças significativas principalmente na 6.<sup>a</sup> semana. A partir dessa idade, essas diferenças são menos acentuadas. Alanina e glutamina tem os seus valores aumentados naqueles tratamentos. O ácido gama-aminobutírico sofreu um pequeno aumento na 10.<sup>a</sup> semana, o qual entretanto não chega a ser estatisticamente significativo.

Tabela 4.a

Compostos nitrogenados solúveis de folhas de S. indicum L. cultivadas em casa de vegetação sob diferentes proporções de Ca:K na solução externa. 6 semanas de idade.

Aminoácido	Microgramas por grama de material fresco			C. V.
	Ca <sub>1</sub> :K <sub>1</sub>	Ca <sub>2</sub> :K <sub>2</sub>	Ca <sub>3</sub> :K <sub>3</sub>	%
leucina+isoleucina	65	90	129 **	11,05
valina+metionina	135	59	71	8,61
tirosina	4	15 **	20 **	8,79
gama-aminobutírico	738	670 **	511 **	5,61
ácido glutâmico	1552	799 **	550 **	3,90
ácido aspártico	779	386 **	143 **	13,01
serina	48	130 **	286 **	8,00
glutamina	1132	1162	1325 **	
treonina	117	69	67	16,53
alanina	482	753 **	1115 **	7,85
glycina	80	96	254 **	12,69
asparagina	2	3	5	38,80
prolina	48	47	59	

\* dif. mínima significativa ao nível de 5%

C. V. = coeficiente de

\*\* dif. mínima significativa ao nível de 1%

variação

Outros aminoácidos como a glycina , serina , tirosina , leucina isoleucina , aumentam com os tratamentos em estudo e acusam diferenças significativas especialmente nas duas primeiras amostragens. Asparagina aumentou nos tratamentos  $Ca_2:K_2$  e  $Ca_3:K_3$  , sendo notória a sua presença nas 8.<sup>a</sup> e 10.<sup>a</sup> semanas. Treonina e valina metionina diminuem quando a relação Ca:K aumenta, sendo que as diferenças significativas mais acentuadas ocorrem com o grupo valina+metionina. Pequenas variações foram detectadas em prolina.

Tabela 4.b

Compostos nitrogenados solúveis de fôlhas de S. indicum L. cultivadas em casa de vegetação sob diferentes proporções de Ca:K na solução externa. 8 semanas de idade.

Aminoácidos	Microgramas por grama de material fresco			C. V. %
	$Ca_1:K_1$	$Ca_2:K_2$	$Ca_3:K_3$	
leucina+isoleucina	21	35	65,9 **	17,80
valina+metionina	31	33	18 *	16,40
tirosina	2,5	5 **	9 **	6,41
gama-aminobutírico	520	473 **	370 **	5,26
ácido glutâmico	301	266 **	156 **	7,15
ácido aspártico	138	123	113	13,25
serina	53	100 **	116 **	13,13
glutamina	313	353	397	10,42
treonina	204	139 **	67 **	8,15
alanina	316	356	427	12,26
glycina	14	36	58	7,06
asparagina	4	6	16	17,30
prolina	24	30	31	37,91

Tabela 4.c

Compostos nitrogenados solúveis de fôlhas de S. indicum L. cultivadas em casa de vegetação sob diferentes proporções de Ca:K na solução externa. 10 semanas de idade.

Aminoácidos	Microgramas por grama de material fresco			C. V. %
	Ca <sub>1</sub> :K <sub>1</sub>	Ca <sub>2</sub> :K <sub>2</sub>	Ca <sub>3</sub> :K <sub>3</sub>	
leucina+isoleucina	21	38	68	39,80
valina+metionina	42	39	24 *	20,00
tirosina	12	15 *	16 *	4,00
gama-aminobutírico	318	420	517	22,70
ácido glutâmico	257	211	204	32,00
ácido aspártico	95	80 **	71 **	1,37
serina	46	45	71 **	4,85
glutamina	320	423 **	740 **	6,28
treonina	31	26	22 **	8,84
alanina	315	413 *	631 **	13,05
glycina	46	69 **	83 **	7,24
asparagina	4	6	13	19,05
prolina	22	31	15	

Além dos aminoácidos, foram detectadas nos cromatogramas outras substâncias que reagem com ninhidrina, e que não foram identificadas. Uma delas possuía o Rf idêntico ao da prolina, em butanol-ácido acético-água; essa substância foi detectada principalmente nos cromatogramas de fôlhas dos tratamentos Ca<sub>2</sub>:K<sub>2</sub> e Ca<sub>3</sub>:K<sub>3</sub>. Em quase todos os cromatogramas foi deteg

tada uma mancha após revelação com ninhidrina, que aumentava sua intensidade no tratamento  $Ca_3:K_3$ ; seu Rf em butanol-ácido acético-água era ligeiramente inferior ao de glutamina, e em fenol-água superior a essa amida.

### B - Nitrogênio nítrico

Os dados da Tabela 5 mostram um aumento dessa forma nitrogenada em todos os tratamentos; as plantas  $Ca_3:K_3$ , entretanto, apresentam maiores diferenças em relação à testemunha. Por outro lado, durante o transcorrer do experimento notou-se uma diminuição gradual de  $N - NO_3$  em cada um dos tratamentos.

Tabela 5

Efeito dos diferentes níveis de cálcio e de potássio sobre o conteúdo de nitrogênio nítrico em folhas de Sesamum indicum L.

Idade da planta (Semanas)	ppm			C. V. %
	$Ca_1:K_1$	$Ca_2:K_2$	$Ca_3:K_3$	
6	19,2	22,8 **	25,8 **	2,08
8	13,8	16,8 **	19,2 **	2,78
10	9,0	13,8 **	16,0 **	2,10

\* diferença mínima significativa ao nível de 5%

\*\* diferença mínima significativa ao nível de 1%

ppm partes por milhão

C.V. coeficiente de variação.

### C - Nitrogênio amoniacal

Os tratamentos  $Ca:K$  determinaram variações nessa forma nitrogenada. Na Tabela 6 pode-se comparar os resultados do tratamento  $Ca_3:K_3$  em

relação à testemunha, cuja média difere significativamente. Em geral foram observados aumentos em  $N - NH_3$ , percebendo-se uma tendência gradual de amônia em acumular-se com a idade da planta.

Tabela 6

Efeito dos diferentes níveis de cálcio e de potássio sobre o conteúdo de nitrogênio amoniacal em folhas de Sesamum indicum L.

Idade da Planta (Semanas)	mg/g de material fresco			C. V. %
	Ca <sub>1</sub> :K <sub>1</sub>	Ca <sub>2</sub> :K <sub>2</sub>	Ca <sub>3</sub> :K <sub>3</sub>	
6	0,002	0,004	0,006 *	40,50
8	0,007	0,009	0,014 **	98,00
10	0,020	0,026	0,037 **	11,48

\* diferença mínima significativa ao nível de 5%

\*\* diferença mínima significativa ao nível de 1%

C.V. coeficiente de variação.

D - Nitrogênio total não protéico

Os valores de nitrogênio total não protéico, registrados na Tabela 7 mostram um incremento gradual dos mesmos com as doses empregadas de Ca<sub>2</sub>:K<sub>2</sub> e Ca<sub>3</sub>:K<sub>3</sub>; as diferenças das médias em relação à testemunha são significativas. Para cada um dos tratamentos, Ca<sub>2</sub>:K<sub>2</sub> e Ca<sub>3</sub>:K<sub>3</sub>, entretanto, o conteúdo de nitrogênio não protéico diminui com a idade da planta.

Tabela 7

Efeito dos diferentes níveis de cálcio e potássio sobre o conteúdo de nitrogênio total não protéico em folhas de Sesamum indicum L.

Idade da Planta (semanas)	mg/g de material fresco			C. V. %
	Ca <sub>1</sub> :K <sub>1</sub>	Ca <sub>2</sub> :K <sub>2</sub>	Ca <sub>3</sub> :K <sub>3</sub>	
6	0,094	0,116 *	0,213 **	6,90
8	0,033	0,080 **	0,102 **	10,70
10	0,032	0,050 **	0,073 **	5,04

\* = diferença mínima significativa ao nível de 5% .

\*\* = diferença mínima significativa ao nível de 1%

C.V. = coeficiente de variação.

#### E - Nitrogênio protéico

Como se nota pelos dados da Tabela 8 , o nitrogênio protéico diminui quando a relação Ca:K aumenta. Note-se, entretanto, que os teores de nitrogênio protéico são elevados.

Tabela 8

Efeito dos diferentes níveis de cálcio e de potássio sobre o conteúdo de nitrogênio protéico em folhas de Sesamum indicum L.

Idade da planta (Semanas)	mg/g de material fresco			C. V. %
	Ca <sub>1</sub> :K <sub>1</sub>	Ca <sub>2</sub> :K <sub>2</sub>	Ca <sub>3</sub> :K <sub>3</sub>	
6	48,3	40,2 **	38,0 **	4,18
8	44,1	37,5 **	35,2 **	3,46
10	42,4	33,6 *	30,3 **	7,33

Pelos resultados das Tabelas 4 a 8, pode-se observar que a relação Ca:K determina efeitos mais ou menos marcantes sobre as substâncias nitrogenadas do gergelim, sendo que a dose mais baixa de potássio, e portanto a relação Ca/K mais elevada, levou a um aumento de nitrogênio nítrico, amídico (glutamina e asparagina), amoniacal e não protéico, e a uma diminuição de nitrogênio protéico e total.

A relação crescente de Ca/K provoca aumentos das amidas glutamina e asparagina. Estas variações estão ligadas à síntese de proteínas; o nitrogênio protéico diminui gradativamente com as doses empregadas. Richards e Templeman (1936) e Richards e Berner (1954) encontraram em plantas de cevada deficientes em potássio um desaparecimento de proteínas nas folhas velhas, não ocorrendo o mesmo nas folhas jovens, e um aumento em nitrogênio amínico e amídico, além de acúmulo de nitrato. Gregory e Sen (1937) encontraram resultados similares, sugerindo que o potássio não estaria ligado primariamente com a síntese de proteínas, mas é de algum modo essencial para manter o complexo protoplasmático; em sua ausência o protoplasma colapsa, levando as folhas a uma morte prematura. Apesar dessas considerações, não se deve esquecer, entretanto, que essas alterações não são exclusivamente devidas ao potássio, mas que, devido às proporções de cálcio e potássio na solução nutritiva, e seu antagonismo característico (Lundegardh, 1966), ocorrem diferentes acumulações desses cátions dentro da planta. Isto influenciaria o metabolismo do nitrogênio, como o observa Steward e Durzan (1965): "Estes dois íons estão implicados na utilização dos compostos nitrogenados das plantas ou no uso efetivo de nitrogênio administrado externamente".

Steward e Preston (1941) estudaram o efeito da concentração de nitrato de potássio e nitrato de cálcio sobre o metabolismo de discos de batati-

na. Observaram que maiores concentrações de  $\text{KNO}_3$  estimulavam a respiração e a síntese de proteínas, enquanto que o aumento de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  produzia efeitos opostos. Dêsse modo, ainda que o potássio e o cálcio são iônios efetivos dêsses sais, o efeito específico estaria determinado pela concentração do aníonio em cada um dêles. "Em soluções de nitrato de potássio a maior parte dos nitratos absorvidos passa para aminoácidos e proteínas. Em soluções de nitrato de cálcio menor quantidade de nitrato é absorvido, e pouco dêsse nitrato aparece como proteínas e o metabolismo do nitrogênio é desviado dos aminoácidos para amidas e amônia". Na solução nutritiva empregada no presente experimento o total dos nitratos é balanceado entre ambos aqueles sais; apesar dêsse equilíbrio, existe uma predominância de nitrato na forma de nitrato de cálcio, o qual aumenta com a diminuição dos níveis de potássio. Nestas condições, o trabalho de Steward e Preston (1941) explicaria a diminuição de nitrogênio protéico e o aumento de amônia, amidas e nitrato nas folhas de ger gelim, quando se aumenta a concentração de nitrato de cálcio na solução externa.

A existência de diversas propriedades antagônicas do potássio e do cálcio, permite explicar fenômenos ligados com a síntese de proteínas: de acôrdo com Bussler (1964), a deficiência de potássio diminui os valores osmóticos da célula permitindo o seu rompimento e desenvolvendo os sintomas de deficiência. Essas variações osmóticas estão ligadas ao poder de turgescência do potássio, o qual apresenta valores mais elevados que o cálcio. Devido a estas atividades coloidais o iônio cálcio perde mais rapidamente as camadas de água (dipolo) que o iônio potássio, com as suas camadas de água, permite intensificar a turgescência do coloide e desenvolver a pectinização.

dos estão de acordo com as observações de Steward et al. (1959), aumento da relação Ca/K na solução nutritiva determinou diminuição nos ácidos aspártico, e glutâmico, e aumento nas amidas correspondentes. Entretanto, segundo aqueles autores, os efeitos destas relações podem variar relativamente ao fotoperíodo da planta, a hora do dia, e ainda a adaptabilidade a condições nutritivas, etc.

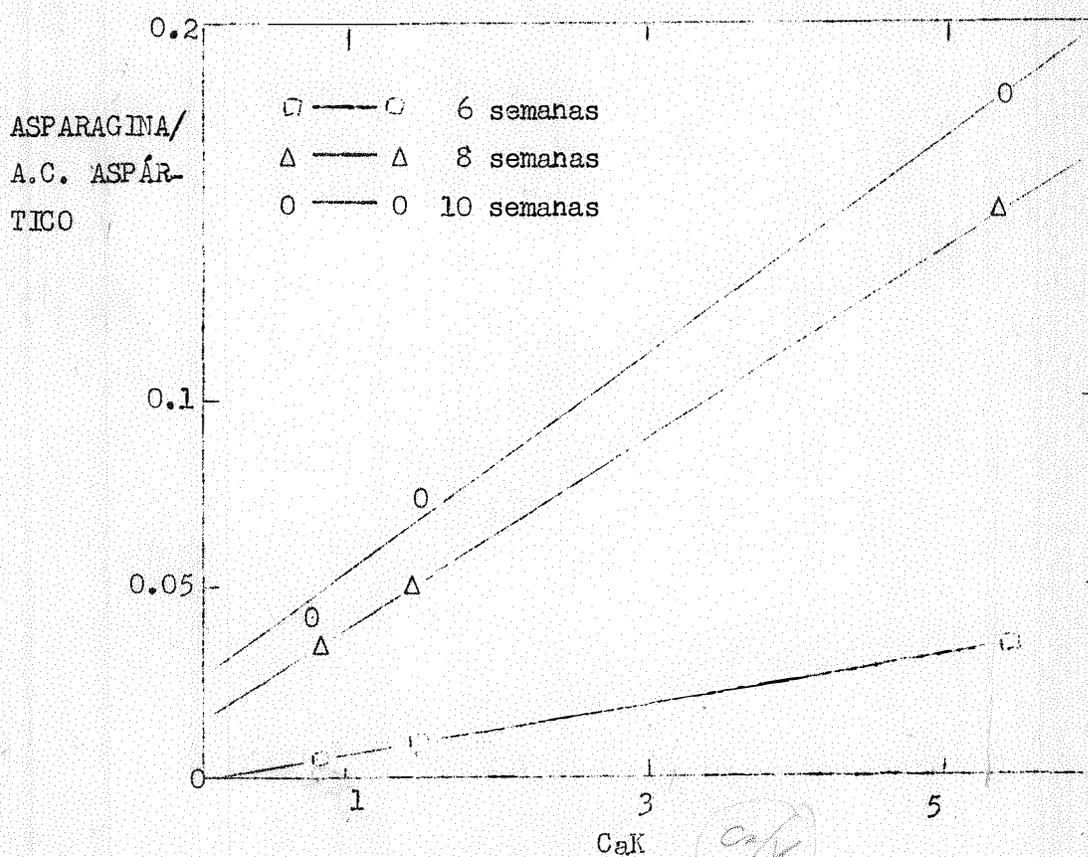


Fig. 7 - Proporção de asparagina/ac. aspártico em folhas de *S. indicum* L. cultivadas em casa de vegetação afetadas pela relação Ca:K na solução nutritiva. Microgramas de substâncias por grama de material fresco.

Certos aminoácidos, como o gama-aminobutírico diminuem com as doses baixas de potássio, aumentando porém ligeiramente na 10.<sup>a</sup> semana ; o aumento desse aminoácido parece estar associado com o teor de ácido succínico. Steward e Durzan (1965) observaram que é possível a conversão do gama-aminobutírico em ácido succínico ; estudos com traçadores confirmam este fato.

Glicina , serina, **o Leucina + Isoleucina** e a tirosina apresentaram aumentos em menor escala, sendo que as vias metabólicas de conversão em outras substâncias são menos conhecidas. A treonina diminui com a deficiência de potássio. A prolina apresenta pequenas variações, sendo muito pouco afetada pelo potássio, acontecendo o mesmo com o grupo da valina + metionina.

## 5 - RESUMO E CONCLUSÕES

No presente experimento procurou-se estudar a influência das relações Ca:K sobre o crescimento, metabolismo dos ácidos orgânicos e substâncias nitrogenadas do gergelim (Sesamum indicum L.) .

Foram usadas para tal fim, plantas de 33 dias de idade cultivadas previamente em solução nutritiva de baixa concentração. As plantas foram selecionadas e colocadas nas soluções em estudo.

Estudaram-se os efeitos de três doses combinadas de cálcio e de potássio:

	Ca <sub>1</sub> :K <sub>1</sub> *	Ca <sub>2</sub> :K <sub>2</sub>	Ca <sub>3</sub> :K <sub>3</sub>
	ml das soluções estoque por litro da solução nutritiva		
KNO <sub>3</sub>	6,0	3,6	1,2
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	4,0	5,2	6,4

\* testemunha

Realizaram-se três colheitas, cada duas semanas, a partir da instalação do experimento. Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação, com arejamento permanente. Foram feitas as seguintes análises: análise química de macronutrientes e formas nitrogenadas; análise cromatográfica de aminoácidos e ácidos orgânicos; e análise estatística. Para tanto, as plantas de cada tratamento foram divididas em dois lotes, um para as dosagens no material seco e outro para as determinações no material fresco.

Do extrato alcoólico obtido, procedeu-se a separação dos aminoácidos e ácidos orgânicos em coluna de resina Dowex 50W-X8, H<sup>+</sup>; os aminoácidos e as amidas retidos foram eluídos da resina com NH<sub>4</sub>OH 0,4 N e 4 N. Os aminoácidos livres e amidas foram identificados e dosados por cromatografia

de papel de filtro, usando fenol-água (80:20 , p:v) como primeiro solvente, e n-butanol-ácido acético-água (4:1:1 , v/v/v) como segundo solvente. Os cromatogramas foram revelados com ninhidrina 0,5% - 8-hidroxiquinoleína 0,1% em etanol 95% ; as manchas foram cortadas e eluidas em tampão fosfato pH 7.0 , durante 18 horas, para leitura da absorvância no fotocolorímetro. A determinação da prolina foi feita empregando isatina.

As substâncias não retidas na resina catiônica foram passadas por uma coluna trocadora de aniônios ( $\text{Cl}^-$ ) , transformada previamente à forma de formiato ( $\text{HCOO}^-$ ) . Nesta resina ficam retidos os ácidos orgânicos, os açúcares e os alcalóides ; estes dois últimos tipos de compostos foram eluidos com várias porções de água.

Os ácidos orgânicos retidos nessa resina foram dosados pela técnica de gradiente de eluição cromatográfica com ácido fórmico 6 N como eluente, procedendo-se então à evaporação completa do ácido fórmico das frações , retomando-se em 2 ml de água e titulando-se com  $\text{NaOH } 2 \times 10^{-3} \text{ N}$  . Os ácidos assim separados foram identificados segundo a sua ordem e lugar de saída, e com o auxílio complementar da técnica de cromatografia de camada delgada.

As substâncias analisadas mostraram variações com a idade da planta e com os tratamentos em estudo. A maior parte dessas substâncias apresentou teores mais elevados nas plantas com 6 semanas de idade ; uma grande parte delas acusou diferenças significativas.

As conclusões gerais dos resultados obtidos podem ser assim resumidas:

A absorção de cálcio cresce com o tempo ; entretanto, quando as condições da solução externa são as mesmas ( $\text{Ca}_1:\text{K}_1$ ) , acontece o contrário com o potássio. Isso seria devido ao antagonismo desses catiônios. Por

outro lado, nos demais tratamentos a absorção de cálcio e de potássio é proporcional à concentração dos mesmos na solução externa.

A medida que a relação Ca/K aumenta, observou-se um incremento de matérias secas das folhas, corroborando o que já se conhece da literatura quanto à participação do cálcio na biossíntese das paredes e membranas celulares. Essas mesmas relações, por outro lado, produzem alterações fisiológicas na planta as quais, na mais baixa concentração de potássio, se manifestam externamente em alterações morfológicas características, como necrose das folhas. Nessas áreas necróticas como se sabe há acúmulo de aminas, representadas principalmente por putrescina.

Como está indicado no texto, os dados resultantes de experimentos sobre os efeitos do potássio no metabolismo de ácidos orgânicos não tem permitido interpretações uniformes entre os autores. Apesar disso, cremos ser lícito dizer que o balanceamento observado no nosso experimento, entre os ácidos málico e succínico com Cítrico e Fumárico, sugere que algumas reações enzimáticas nas quais esses ácidos estão envolvidos foram afetadas pelas doses de cálcio e potássio utilizadas. Aliás, as doses mais baixas de cálcio e potássio interferiram também com os compostos nitrogenados, tornando válido dizer-se, que afetaram as interconversões de ácidos orgânicos e aminoácidos.

Houve um decréscimo no nitrogênio protéico, enquanto o nitrogênio amoniacal e nítrico aumentaram com o aumento da relação Ca/K. Deve-se ressaltar o acúmulo de amidas que ocorre nessas condições. Essas e outras observações discutidas no texto indicariam que o cálcio e o potássio participam na síntese de proteínas. O potássio atuaria como cofator das reações enzimáticas ou na manutenção da configuração de estruturas celulares como ribossomas e mitocôndria.

6 - SUMMARY

This work was carried out in order to study the influence of the Ca/K levels on the growth, organic acids and nitrogen compounds on Sesamum indicum L. plants.

The plants were growing in three different combined calcium and potassium levels:

	Ca <sub>1</sub> :K <sub>1</sub> *	Ca <sub>2</sub> :K <sub>2</sub>	Ca <sub>3</sub> :K <sub>3</sub>
	ml stock solutions/l nutrient solution		
KNO <sub>3</sub>	6.0	3.6	1.2
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	4.0	5.2	6.4

\* controll

Some of the plants from each treatment were used for the determination of dry matter, macronutrients and N-NO<sub>3</sub>. Others were used for separation and identification of organic compounds. In these plants quantitative determination were made for aminoacids and organic acids.

From the data obtained conclusions were drawn as follows:

- 1 - The absorption of calcium is in direct relation to the time course; this was not true with potassium, when the same conditions were held in the external solution (Ca<sub>1</sub>:K<sub>1</sub>), this difference may be due to the antagonism between of these cations. However, in other treatments the absorption of calcium and potassium is proportional to their concentrations in the nutrient solutions.
- 2 - When the Ca/K level increased an increment in the dry matter content observed due, of course, to the role of calcium in the biosynthesis of the cell walls and membranes.

- 3 - On the other hand the higher levels produced physiological alterations which were observed as necrotic areas in the leaves. As would be expected probably was an accumulation of amines in the necrotic areas.
- 4 - The increasing Ca/K levels produced an alteration in the content on the organic acids determined citrate and fumarate increased, and succinate and malate decreased. This suggested that calcium and potassium have role in the enzymatic reaction involving these acids. From the data found in the literature this was due mainly to the decrease in potassium.
- 5 - Protein-N decreased, and  $N-NH_3$  and  $N-NO_3$  and amides increased when Ca/K levels were increased in the external solution. In the text these results are discussed and we may say that probably these two cations participate in the protein synthesis; potassium may act as a cofactor in the enzymatic reaction involved in this pathway in maintenance of the configuration of the cellular structures such ribosomes and mitochondria.

7 - LITERATURA CITADA

- ARZOLLA, J. D. P. e Z. H. FONSECA - 1966 - Cromatografia de Aminoácidos. Bol. Didat. (14), ESALQ, USP, Piracicaba, S. Paulo, Brasil.
- BASCONES, L. e J. LOPEZ RITAS - 1961 - La Nutrición Mineral de Ajonjolí: 1.º Síntomas Visuales de Deficiencia y Diagnóstico Foliar. Agrn. Trop. 11 (1): 17-32.
- BASCONES, L. e J. LOPES RITAS - 1961 - La Nutrición Mineral del Ajonjolí. Agrn. Trop. 11 (2): 93-101.
- BEEVERS, H. et al. - 1966 - Metabolism of the Organic Acids. In Plant Physiology, Edit. F. C. Steward 4 B. Academic Press. N. York, London. 119-262.
- BLOCK, R. J. e D. BOLLING - 1945 - A Note on the Aminoacids Yielded by Yeast, Sunflower, Seed Meal and Sesame Seeds After Hydrolysis of Fat-free Tissue. Arch. Biochem 6: 277-9 (cf. C. A., 1945, 39: 4636-2).
- BUSSLER, W. - 1964 - Comparative Examinations of Planta Suffering from Potash Deficiency. Trans., Verlag-chemie GMBH.
- CARLES, J. - 1960 - Lé Metabolisme des Acides Organiques dans L'ensemble de la Plante. In Enciclopedia Plant Physiology Edit. W. Ruhland Springer-Verlag. Berlin. 663-669.
- COLEMAN, R. G. - 1962 - The Effect of Nutrient Deficiencies on Nitrogen Metabolism. In Symposium "A Review of Nitrogen in The Tropics". Bull. 46. Commonwealth Agric. Bureaux London. 98-117.
- CROCOMO, O. J. - 1959 - Estudo Sôbre o Metabolismo da Uréia - C<sup>14</sup> Aplicada às Fôlhas de Cafeeiro (Coffea arabica L., Var. Bourbon (B. Rodr.) Choussy) Normal e Deficiente em Nitrogênio. Tese mimeografada. ESALQ, USP, Piracicaba, S. Paulo, Brasil.

- CROCOMO, O. J. e C. ROSSI - 1967 - Determinação Quantitativa da Putrescina por Cromatografia em Papel de Filtro. Anais da E. S. A. "Luiz de Queiroz", USP, no prelo.
- CROCOMO, O. J. et al. - 1968 - Decarboxilation of Ornithine <sup>14</sup>C and Arginine <sup>14</sup>C in K - Deficient Plants. Anais da E. S. A. "Luiz de Queiroz", USP, no prelo.
- DeKOCK, P. C. - 1964 - The Physiological Significance of the Potassium - Calcium Relationship in Plant Growth. Outlook on Agriculture 4 (20) : 93-98 .
- DEY, B. B. e H. C. FRIEDMANN - 1951 - The Oxalate Content of Sesame (Sesamum indicum) Seeds. Current Sci. (India) 20: 182 (cf. C. A. 1953, 47, 696 d) .
- FREEMAN, G. G. - 1967 - Studies on Potassium Nutrition of Plants. II. Some Effects of Potassium Deficiency on the Organic Acids of Leaves. J. Sci. Fd. Agricult. 18 (12) . 569-76 .
- FUJIWARA, A. e S. IIDA - 1957 - Problems of Biochemistry of Potassium. In "Japanase Potassium Symposium", Edited by Y. Noguehi Tokio: 33-35
- GLÓRIA, N. A. da ; R. A. CATANI e T. MATUO - 1965 - Determinação de Cálcio e Magnésio em Plantas, pelo Método do EDTA. Anais da E. S. A. Luiz de Queiroz", USP, 22: 154-171 .
- GREGORY, F. G. e P. K. SEN - 1937 - Physiological Studies in Plant Nutrition. VI. The Relation of Respiration Rate to the Carbohydrates and Nitrogen Metabolism of Barley Leaf Determinated by Nitrogen and Potassium Deficiency. Ann. of Bot. , N. S. 1. : 551-62 .

- HAAG, H. P. - 1958 - Efeitos das Deficiências e Excessos de Macronutrientes no Crescimento e na Composição do Cafeeiro (Coffea arabica L. Var. Bourbon (B. Rodr.) Choussy) Cultivado em Solução Nutritiva. Tese mimeografada. ESALQ, USP, Piracicaba, S. Paulo, Brasil.
- HOAGLAND, D. R. e D. I. ARNON - 1950 - The Water Culture Method for Growing Plants Without Soil. California Agricultura Experiment Station California, Cir. 347.
- ILJIN, W. S. - 1951 - Determinación Colorimétrica de Nitratos com Alfa-naftilamina. Agrn. Trop. 1 (2): 149-55.
- ILJIN, W. S. - 1951 - Metabolism of Plants Affected with Lime - Induced Chlorosis (Calciose). I. Nitrogen Metabolism. Plant and Soil 3 (3): 239-55.
- ILJIN, W. S. - 1951 - Metabolism of Plants Affected with Lime - Induced Chlorosis (Calciose). II. Organic Acids and Carbohidrates. Plant and Soil 3 (3): 339-51.
- ISHIBARA, T. e M. YATASABA - 1953 - Distribution of Magnesium in Leaf Tissue. Science Rept Shiga Agr. Cd., Ser 1 (5): 19-22 (cf. C. A., 1956, 50 6599 c).
- JACOBSON, L. et al. - 1960 - Role of Calcium in Absortion of Monovalents Cations. Plant Physiology 35: 352-358.
- JONES, R. G. e O. R. LUNT - 1967 - The Function of Calcium in Plants. Bot. Rev. 33 (4): 407-26.
- JONES, L. H. - 1961 - Some Effects of Potassium Deficiency on the Metabolism of Tomato Plant. Can. J. Bot. 39 (2): 594-606.
- LEES, T. M. e J. P. DeMURIA - 1962 - J. Chromatography 8: 108-09.

- LOTT, W. L. et al. - 1956 - A Técnica de Análise Foliar Aplicada ao Cafeeiro. Inst. Agr. Bol. (7<sup>a</sup>) Campinas, Brasil.
- LUNDEGARDH, H. - 1966 - Plant Physiology. Translated by F. M. Irvine Oliver e Boyd. Edimburg and London.
- MALAVOLTA, E. - 1957 - Práticas de Química Orgânica e Biológica. Centro Acadêmico "Luiz de Queiroz", Piracicaba, S. Paulo, Brasil.
- MALAVOLTA, E. - 1964 - Análise Química dos Teores Totais. Curso Internacional de Diagnose Foliar. IICA, ESALQ, USP, Piracicaba, S. Paulo, Mimeografado.
- MALAVOLTA, E. ; H. P. HAAG ; F. A. F. MELLO de ; M. O. C. BRASIL SOBR. 1967 - Nutrição Mineral de Algumas Culturas Tropicais. Pioners. S. Paulo.
- MCCOLLOCH, W. E. - 1931 - Nutritive Value of Buni Seed. Nature 127 (3197) 199-200.
- MCCOLLUM, W. E. et al - 1958 - Influence of Potassium on Pyruvic Kinase from Plant Tissue. Soil Sci. 86 (6): 324-31.
- NOGUCHI, Y. e T. SUGAWAYA - 1957 - Studies on Some Indication of Potassium Deficiency in Rice Plants. In "Japan Potassium Symposium. Edited by Y. Noguchi Tokyo. 57-70.
- OVERSTREET, R. et al. - 1952 - The Effect of Calcium on the Absorption of Potassium by Barley Roots. Plant Physiology 27: 583-90
- PALMER, J. K. - 1955 - Chemical Investigation of Tobacco Plant. X. Determination of Organic Acids by Ions Exchange Chromatography. Conn. Agr. Exp. Sta. Bull. 589. New Haven Conn.
- PIMENTEL GOMES, F. - 1966 - Curso de Estatística Experimental. 3<sup>a</sup> Ed. (ampliada). ESALQ, USP, Piracicaba, S. Paulo, Brasil.

- RESNIK, et al. - 1966 - Some Effects of Calcium and of Concentration on Potassium Accumulation by Barley and Bush Bean. In Current Tropics in Plant Nutrition. Edited by A. Wallace, Los Angeles, California: 105-109.
- RICHARDS, F. J. e W. A. TEMPLEMAN - 1936 - Physiological Studies in Plant Nutrition. IV. Nitrogen Metabolism in Relation to Nutrient Deficiency and Age in Leaves of Barley. Annals Botany 50: 3-67.
- RICHARDS, F. J. e E. Jr. BERNER - 1954 - Physiological Studies in Plant Nutrition. Ann. Bot. N. S. 18 (69): 15-33.
- STEWARD, F. C. e L. PRESTON - 1941 - The Effect of Salt Concentration Upon the Metabolism of Potato Disc and the Contrasted Effect of Potassium and Calcium Salt with Have a Common Ion. Plant Physiology 16: 85-116.
- STEWARD, F. E. e D. B. DURZAN - 1965 - Metabolism of Nitrogenous Compounds. Plant Physiology. Edt. F. C. Steward, 4 A: 376/686.
- STEWARD, F. C. et al. - 1959 - Nutritional and Enviromental Effects on the Nitrogen Metabolism of Plants. In Symposia of Utilization of Nitrogen and its Compounds by Plants. Edit. Porter H. K. Cambridge, at University Press. 148-76.
- TAIRA, H. e H. TAIRA - 1964 - Aminoacids Composition of Seed and Nuts. Eiojo-to Shokuryo 7 (4): 244-7 (cf. C.A., 1966 64: 1009 h).
- VICKERY, H. B. e J. K. PALMER - 1957 - The Metabolism of the Organic Acids of Tobacco Leaves. XIII. Effect of Culture of Excides Leaves in Solutions of Potassium Bicarbonato. J. Biol. Chem. 27 (1): 69-81.

- VILLADEMAR, M. De L. et al. - 1956 - Determination of Essential Aminoacids in Mexican Foods. *Ciencia (Mex.)* 16: 17-23 (cf. C. A. 1957 , 51 8313 i) .
- WALLACE, A. et al - 1966 - Potassium Content of Juice from Different Species of Citrus that Vary Greatly in Acid Content of Fruit. In Current Topics in Plant Nutrition. Edited by A. Wallace , Los Angeles. California: 99 .
- WALLACE, A. - 1966 - The Role of Calcium in Monovalent Cation Accumulation in Bush Bean Plants. In Current Topics in Plant Nutrition. Edited by A. Wallace , Los Angeles , California: 100-104 .
- ZENZABURO, K. et al. - 1956 - Relation Between Translocation of Phosphorus by Rape and Sesame Crops and Magnesium Nutrition. *Nippon-Dojô-Hiryogaku Zasshi* 27: 365-8 (cf. C. A. , 1958 , 52: 2180 f) .
- ZENZABURO, K. et al. - 1957 - Translocation of Mineral Nutrient in Higher Plants. IX . Relation Between the Light Condition and the Distribution of Absorbed by Sesame and Rape Plants. *Nippon-Dojô-Hiryogaku Zasshi* 27: 403-6 (cf. C. A. , 1958 , 52 3043 c) .