**EFEITO DO POTÁSSIO SOBRE A ATIVIDADE DE INVERTASES,
TEORES DE AÇÚCARES E COMPOSTOS NITROGENADOS EM
CANA-DE-AÇÚCAR (*Saccharum* spp. var. NA56-79) CULTIVADA
EM SOLUÇÃO NUTRITIVA**

IRENICE MARIA SANTOS VIEIRA

Orientador: Prof. Dr. OTTO JESU CROCOMO

**Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade
de São Paulo, para obtenção do título de
Mestre em Agronomia. ÁREA DE CONCENTRA-
ÇÃO: Solos e Nutrição de Plantas.**

**PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Abril - 1983**

.i.

Aos meus filhinhos

Michella e Michell

DEDICO

Ao *Wilton*, meu esposo,

Cassiano e Izabel, meus pais

e meus *irmãos*

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Otto Jesu Crocomo, pela orientação, estímulo e atenção de sempre, decisivos para a realização deste trabalho.
- Ao Dr. Neftali Ochoa Alejo, pesquisador do CONACYT (México), pela amizade, valiosas sugestões e imensa colaboração.
- Aos Engenheiros Agrônomos Lúcio Salgado Vieira e Maria de Nazaré Figueiredo Vieira (FCAP), Francisco A. F. Mello (ESALQ/USP) e Alcy Jaccoud (UFRRJ), pela amizade, apoio e incentivo.
- Ao Eng^o Agr^o T. Yamada, diretor dos Institutos da Potassa (USA/SUIÇA) no Brasil, pelo suporte financeiro à pesquisa.
- Aos técnicos Carlos A. Dorelli, Enio T. de Oliveira e Sérgio C. Dorelli pela assistência e em especial, ao Romeu Aparecido Rocha, pela colaboração nos trabalhos de laboratório.
- Aos meus colegas e amigos da Seção de Bioquímica de Plantas e Seção de Fertilidade e Fertilizante do Solo do CENA, pela amizade e maravilhoso convívio.
- Ao Sr. Cleusval Bissi, pelo serviço de datilografia e Benedito H. Davanzo e Celso de Aguiar, pelos serviços de impressão.
- À Faculdade de Ciências Agrárias do Pará (FCAP), na pessoa do seu Diretor, Dr. Virgílio Libonatti, pela oportunidade.

- À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ) e Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), pelas facilidades.
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de estudo.
- À todos que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Í N D I C E

	<u>Página</u>
RESUMO.	vi
SUMMARY	viii
1. INTRODUÇÃO.	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1. Função do íon K^+ no metabolismo da cana-de-açúcar	5
2.2. Consequências do suprimento inadequado de K^+ no metabolismo da planta	12
2.3. Função das invertases no metabolismo de açúcares em cana-de-açúcar.	17
3. MATERIAL E MÉTODOS.	28
3.1. Cultivo das plantas e preparo do material.	28
3.2. Análises químicas.	32
3.2.1. Determinação de carboidratos.	32
3.2.1.1. Açúcares redutores (AR), açúcares redutores totais (ART) e sacarose	32
3.2.1.1.a) Extração.	32
3.2.1.1.b) Quantificação	32
3.2.2. Determinação dos compostos nitrogenados	33
3.2.2.1. Proteína.	33
3.2.2.1.a) Extração.	33
3.2.2.1.b) Quantificação	34

	<u>Página</u>
3.2.2.2. Nitrogênio solúvel em álcool..	34
3.2.2.2.a) Extração.	34
3.2.2.2.b) Quantificação . . .	34
3.2.2.3. Nitrogênio total.	35
3.2.2.3.a) Extração.	35
3.2.2.3.b) Quantificação . . .	35
3.2.3. Determinação do potássio.	36
3.2.3.1. Extração.	36
3.2.3.2. Quantificação	36
3.3. Análise enzimática.	36
3.3.1.a) Preparação do extrato enzimático. . .	36
3.3.1.b) Determinação da atividade enzimática.	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.	38
4.1. Interação "Potássio/Crescimento/Atividade de Invertases".	38
4.2. Interação "Potássio/Acúmulo de Açúcares/Atividade de Invertases"	45
4.3. Interação "Potássio/Compostos Nitrogenados/Atividade de Invertases".	55
4.4. Interação "Potássio/Atividades de Invertases"	62
5. CONCLUSÕES.	70
6. LITERATURA CITADA	72
7. TABELAS	88

EFEITO DO POTÁSSIO SOBRE A ATIVIDADE DE INVERTASES, TEORES DE AÇÚCARES E COMPOSTOS NITROGENADOS EM CANA-DE-AÇÚCAR (*Saccharum* spp. var. NA56-79) CULTIVADA EM SOLUÇÃO NUTRITIVA

Irenice Maria Santos Vieira

Prof. Dr. Otto Jesu Crocomo

- Orientador -

R E S U M O

No presente trabalho foram estudadas as inter-relações entre desenvolvimento da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. var. NA56-79) e os teores de açúcares e compostos nitrogenados dando ênfase as enzimas invertases bem como suas atuações em função dos diferentes níveis de potássio. Para isso, plântulas obtidas da cultura de tecidos de cana-de-açúcar, foram cultivadas em solução nutritiva contendo níveis crescentes de potássio (0,1, 6 e 12 mM), mantidas em casa de vegetação por um período de 60 dias e colhidas a cada 20 dias num total de três colheitas. Ensaio de crescimento, atividade de invertase ácida (pH 5,5), invertase neutra (pH 7,1), conteúdo de sacarose, açúcares redutores (AR), açúcares redutores totais (ART), proteína, N-total e N- α -NH₂ solúvel foram realizados na parte aérea, que foi dividida em três segmentos (superior, médio e inferior).

A adição de baixo nível de potássio à solução nutritiva, teve em efeito depressor sobre o crescimento das plantas, as quais atingiram um nível ótimo de crescimento na concentração de 6,0mM de K⁺. Aumento nos teores de sacarose, açúcares redutores e açúcares redutores totais, ocorreu em to

dos os segmentos das plantas crescendo em condições de deficiência; inversamente, uma redução nos teores desses açúcares ocorreu quando a concentração de potássio foi de 12 mM. As variações dos níveis de potássio não afetaram significativamente a atividade de invertases que não apresentaram nas condições deste estudo, uma tendência bem definida; entretanto, na concentração mais baixa (0,1 mM de K^+) a atividade das enzimas foi mais alta. Uma correlação inversa entre atividade de invertase e conteúdo de sacarose ocorreu em todos os segmentos independente do nível de potássio que foi fornecido a solução nutritiva. No segmento inferior onde a atividade da enzima foi muito baixa, a sacarose formou quase 80% de matéria seca. Por outro lado, no segmento médio e no segmento superior onde a atividade da enzima foi mais elevada durante todo o experimento, não ocorreu acúmulo de quantidades apreciáveis de sacarose e os açúcares redutores totais passaram a constituir a principal forma de armazenamento. Estes resultados sugerem que o principal fator que controla o nível de açúcares na parte aérea da cana-de-açúcar é a atividade destas duas enzimas, que utilizam sacarose como substrato. Em todos os casos, a atividade da invertase ácida foi relativamente maior do que a invertase neutra, indicando que nas condições do experimento a invertase ácida foi a enzima predominante.

No segmento superior, a redução do teor de proteínas e N-total induzida pelas variações da nutrição potássica, foram mais acentuadas em dose excessiva de potássio do que em condições de deficiência. As plantas deficientes acumularam N- α -NH₂ solúvel como resultado de uma intensa redução na síntese de proteínas que por sua vez pode ter determinado o maior acúmulo de açúcares redutores e a redução do crescimento.

EFFECT OF POTASSIUM ON THE ACTIVITY OF INVERTASES, LEVEL OF
SUGARS AND NITROGEN COMPOUNDS IN SUGARCANE (*Saccharum* spp.
var. NA56-79) GROWN IN NUTRIENT SOLUTION

Irenice Maria Santos Vieira

Prof. Dr. Otto Jesu Crocomo

- Adviser -

S U M M A R Y

The present research work dealt with the interrelationship between the development of sugarcane (*Saccharum* spp. var. NA56-79) and level of sugars and nitrogen compounds, influenced by potassium nutrition, emphasizing the activity of the invertase enzymes. In order to reach this objective, seedlings obtained by tissue culture techniques were maintained in nutrient solution in the presence of the following potassium concentrations (0.1, 6.0 e 12.0 mM) in greenhouse during 60 days and a total of three harvests were made at 20 day intervals. Growth rate, acid (pH 5,5) and neutral (pH 7,1) invertase activities, sucrose, reducing sugars (RS), total reducing sugars (TRS), protein, total-N and α -NH₂-N contents were determined in sugarcane shoots which were derived in three different segments: upper, intermediate and lower.

Addition of low potassium concentration to the nutrient solution had an inhibitory effect on plant growth, which reached the highest levels of growth at the 6.0 mM concentration. Increase of the levels of sucrose, reducing sugars and total reducing sugars occurred in all plant segments

growing under deficiency conditions; inversely, a reduction in the levels of these sugars occurred when the potassium concentration was 12 mM. Variation in potassium levels did not effect significantly invertase activity, which did not show a definite tendency; but, at lower concentrations (0.1 mM de K^+) the activity of these enzymes was higher. An inverse correlation was found between invertase activity and sucrose levels in all plant segments, independently of the amount of potassium supplied to the nutrient solution. In the lower segment, where invertase activity was very low, sucrose accumulated up to about 80% of the total dry matter. On the other hand, in the intermediate and upper segments the enzyme remained high throughout the experiment, sucrose did not accumulate and total reducing sugars became the main form of stored sugar. These results suggest, therefore, that the main factors controlling sugar levels in sugarcane shoots is the relative activity of these two enzymes, both utilizing sucrose as substrate. In all cases, the acid invertase activity was relatively higher than that of the neutral invertase, indicating that the acid invertase was the predominant enzyme under the present study conditions.

In the upper segment, the decrease in protein and total-N levels, induced by the variation in K-levels were much more accentuated in high-K plants than in the K-deficient plants. These plants however, accumulated soluble α -NH₂-N, which is an indication of an intense decrease in protein synthesis which also determined a greater accumulation of reducing sugars and a decrease in the growth rate.

1. INTRODUÇÃO

A localização do sítio específico de ação do potássio nas fases do metabolismo de açúcares em plantas de cana-de-açúcar, nos sucessivos estágios do desenvolvimento tem sido extensivamente investigado.

Como já é conhecido, o potássio afeta direta ou indiretamente muitas, senão todas, as funções bioquímicas e fisiológicas da planta, sendo considerado o fator que mais contribui para o melhor crescimento e maior produção da cana-de-açúcar. A análise bioquímica das partes constituintes das plantas, especialmente tecidos armazenadores de folha, bainha e colmo revelam elevada exigência de K^+ pela cultura, mais do que o N, ou qualquer outro nutriente. Plantas adequadamente supridas com potássio segundo inúmeros autores, acumulam grandes quantidades de carboidratos solúveis em seus tecidos de armazenamento o que pode ser atribuído a elevada atividade fotossintética de plantas bem supridas com esse nutriente.

Inúmeras investigações conduzidas em solução nutritiva, têm tentado, pelo controle da nutrição potássica, induzir mudanças no conteúdo de açúcares em internódios de cana-de-açúcar, com o objetivo de determinar de que maneira elas estão correlacionadas com a atividade de enzimas responsáveis

pela biossíntese de açúcares.

Os autores que estudam esta situação, têm verificado que a ausência de quantidades significantes de sacarose, associada com a presença de altos teores de açúcares redutores correlacionam-se com a existência de elevados níveis de invertase ácida solúvel, muito ativa em tecidos de cana-de-açúcar durante o período de desenvolvimento. A atividade dessa enzima começa a desaparecer quando cessa a elongação celular, sendo substituída pela atividade de invertase neutra que aumenta durante a maturação.

As atividades de ambas as formas de invertase diferem em propriedades e localização celular, mas o modo como elas estão relacionadas ao metabolismo da planta e ao nível de potássio não está totalmente elucidado. De particular interesse é a identificação de mudanças significantes no comportamento de isoenzimas de invertases durante o período de transição de tecidos meristemáticos para tecidos adultos em internódios de cana-de-açúcar.

Comparativamente, a separação espacial de distintos níveis de desenvolvimento celular em internódios de cana-de-açúcar, tem se constituído um excelente material para se estudar os efeitos dos elementos minerais em termos de atividade enzimática.

Apesar da existência de trabalhos realizados com plantas de ervilha, aveia, tomate, cevada, mostrando a influência da atividade de invertases, sobre o acúmulo de açúcares, em diferentes regiões de crescimento da parte aérea, nos sucessivos estágios de desenvolvimento; poucos autores, tem estabelecido tal correlação com o potássio, sobretudo em plantas de cana-de-açúcar.

Entretanto, ainda que exista uma escassez de in

formações sobre trabalhos desta natureza, muitos pesquisadores, tem demonstrado que o colmo de plantas jovens de cana-de-açúcar é um material particularmente adequado para o estudo dos processos de transporte e armazenamento de assimilados. Além disso, considerando os processos bioquímicos que levam à produção de açúcares, a produtividade de cana-de-açúcar pode ser descrita pelas relações "fonte-reservatório". Os tecidos verdes com a sua consequente capacidade de fotossíntese representam a "fonte", enquanto que, o "reservatório" é representado pelos órgãos da planta que se utilizam dos fotossintetizados, para o crescimento e metabolismo. O potássio nesse caso, parece funcionar como um agente estimulador da fonte, isto é, do suprimento de fotossintetizados para os órgãos de armazenamento.

Ensaio com cana-de-açúcar conduzidos em vários laboratórios, utilizando $^{14}\text{CO}_2$, tem mostrado que a sacarose, é, entre outros, como glucose e frutose, o mais importante açúcar que se forma, constituindo cerca de 80 a 90% dos produtos fotossintetizados e que após sua biossíntese na folha é transportada para o colmo onde é armazenado, a medida que a planta se desenvolve. Como todos os processos regulados metabolicamente, o transporte de açúcares através desse sistema "fonte-reservatório" envolve enzimas, possivelmente invertases as quais, via de regra, exigem potássio para sua atividade.

Assim, se tanto o potássio como invertases estão distribuídos por todos os órgãos da planta, se são inerentes às células em crescimento e se estão implicados na formação e acúmulo de carboidratos solúveis, é de se esperar que ambos sejam considerados fatores que limitam o crescimento e a produção da planta. Desde que o conhecimento desses fatores é um pré-requisito para melhor interpretação dos fenômenos bioquímicos que contribuem, em última análise para maximizar o potencial de utilização de uma variedade, e desde que no

estádio inicial do desenvolvimento as plantas possuem todas as informações necessárias para canalizar seu desenvolvimento até a formação da planta adulta; o estudo dos segmentos das regiões de crescimento de parte aérea de cana-de-açúcar pode ser fonte de valiosas informações.

Pretendeu-se portanto, nesse trabalho, dar uma contribuição para se compreender o efeito do potássio sobre as interações entre a atividade de invertase ácida e invertase neutra com o metabolismo de açúcares e compostos nitrogenados, na parte aérea de cana-de-açúcar cultivada em solução nutritiva.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Função do Íon K^+ no metabolismo da cana-de-açúcar

Na cana-de-açúcar, como em todas as plantas superiores, o potássio tem muitas funções nos seus processos bioquímicos e fisiológicos, por isso seus efeitos sobre os processos metabólicos relacionados ao desenvolvimento, não podem ser enumerados detalhadamente, mas sim agrupados de acordo com aqueles principais, que contribuem para produção final de açúcares, e que são: biossíntese, translocação e acúmulo de sacarose nas células imaturas de armazenamento.

Existe um grande número de trabalhos que descrevem os efeitos do K^+ em muitos ou em quase todos os processos metabólicos da cana-de-açúcar, não estando claro porém, se os efeitos são de natureza direta ou se indireta (DILLEWIJN, 1952). Selecionando os dados de alguns autores pode-se distinguir vários grupos principais: O K^+ intervém na síntese de açúcar e amido; na síntese de proteínas, principalmente nos tecidos meristemáticos; no aumento da clorofila bruta e conversão de energia nos cloroplastos, e na abertura e fechamento dos estômatos. Essa última função possibilita a retenção de água e a manutenção do turgor celular; o que cria condições favoráveis para as reações da fotossíntese e faz com que esse íon participe decisivamente no crescimento normal da planta

(LAWTON e COOK, 1954; BLANCHET *et alii*, 1962; HUMBERT, 1968a; VON UEXUELL, 1968).

Além de participar ativamente da fotossíntese, o K^+ atua diretamente em vários passos metabólicos da síntese de proteína além de ser cofator de aproximadamente 60 enzimas (EVANS e WILDES, 1971).

Muitas enzimas, principalmente ligadas ao metabolismo de açúcares em cana-de-açúcar requerem K^+ e outros cátions monovalentes como cofator (ALEXANDER, 1965b). Outras envolvidas com as transformações anabólicas e catabólicas de sacarose e hexoses em cana-de-açúcar, como é o caso de invertases, peptase e catalase, parecem necessitar desse íon para suas atividades (HARTT, 1934). Apesar disso, ainda que esteja relacionado com a atividade de tantas enzimas, o potássio ainda constitui um desafio àqueles que desejam elucidar o mecanismo de sua essencialidade a nível enzimático (MURATA e AKAZAWA, 1968).

Ao contrário dos outros macronutrientes, o potássio não faz parte de nenhum composto orgânico, mas chama atenção, pelo fato de ser o cátion mais abundante no suco celular e se encontrar basicamente na forma de sais inorgânicos solúveis, em todos os tecidos de crescimento da planta o que faz supor, ser de grande importância para a divisão celular de tecidos jovens (LAWTON e COOK, 1954). Entretanto, embora já esteja claramente estabelecido que o potássio é essencial para os tecidos em desenvolvimento muitos aspectos bioquímicos do metabolismo celular, ainda não estão completamente elucidados (SCOTT-RUSSEL e CLARKSON, 1971).

ALEXANDER (1965b) cita inúmeros trabalhos realizados com cana-de-açúcar em que Hartt correlaciona atividade de enzimas com áreas de formação de açúcar e suprimento de K^+ .

Baixos níveis de sacarose tem sido encontrados associado com a deficiência de K^+ em cana (SAMUELS *et alii*, 1956) e sendo a sacarose o principal carboidrato armazenado nesta planta, acredita-se que ela seja hidrolisada para produzir açúcares mais simples, como a glucose e a frutose que serão utilizados como fonte de energia e de esqueletos carbônicos durante a germinação e o crescimento (GLASZIOU, 1961).

Um fato interessante que chama a atenção é que o decréscimo de sacarose na parte aérea da cana-de-açúcar, muitas vezes independe do suprimento de K^+ , estando relacionado com a atividade de invertase (GLASZIOU, 1961) e a idade fisiológica da planta (ALEXANDER, 1964).

A cana-de-açúcar, mais do que a maioria das plantas, parece que tem necessidade de metabolizar glicose durante seus primeiros meses de crescimento e desenvolvimento (ALEXANDER, 1965a).

GLASZIOU (1961) observou que a maturação do tecido de armazenamento é sempre acompanhado por um aumento no conteúdo de sacarose e uma concomitante diminuição no teor de glicose e frutose.

A respeito da participação do K^+ no processo de fotossíntese na cana-de-açúcar, HAEDER e MENGEL (1974) observaram que esse íon parece aumentar a taxa de assimilação de CO_2 e facilitar a migração de fotossintetados.

HARTT (1969) apresentou provas de que o K^+ acelera o movimento de fotossintetados da folha de cana-de-açúcar. Posteriormente, HARTT (1970) verificou que o efeito do K^+ sobre o processo de translocação, parece estar diretamente relacionado com o processo de fotofosforilação, pois quando o ní-

vel desse íon é alto, ocorre maior estímulo na produção de ATP, que é requerido tanto na translocação de fotossintetados nos tubos condutores, como na acumulação destes, nos tecidos de armazenamento da cana-de-açúcar, que segundo *BIELISKI (1960)* se dá contra gradiente de concentração, num processos dependente de energia respiratória.

MALAVOLTA e CROCOMO (1982) relatam que a participação do K^+ no processo de fotossíntese, faz com que esse íon atue decisivamente na taxa de crescimento normal das plantas. A cana-de-açúcar, requer para o seu crescimento e metabolismo de grandes quantidades de K^+ e a exemplo do que ocorre com todas as plantas superiores tem o seu crescimento expresso em termos de elongação, porém, num sentido mais amplo, se inclui o aumento de matéria seca, assim como o aumento de peso e tamanho (*DILLEWIJN, 1952*).

Estudos enzimáticos sobre o processo de acumulação de açúcares tem mostrado que a sacarose é o principal açúcar que se forma na cana-de-açúcar, conforme demonstram *GLASZIOU (1961)* e *HATCH (1964)*.

Os efeitos benéficos do K^+ no transporte de fotossintetados em cana-de-açúcar são descritos por *HARTT (1969)* enquanto que o processo de acumulação de açúcares nos tecidos de armazenamento tem sido descritos por *GLASZIOU, 1962; HATCH et alii, 1963; HATCH e GLASZIOU, 1963, SACHER et alii, 1963 e GLASZIOU e GAYLER (1972)*, com ênfase na atividade de invertase ácida e invertase neutra, sobre o metabolismo e taxa de crescimento da planta.

Recentemente, estudos sobre o mecanismo de acumulação de sacarose nos tecidos de armazenamento de cana-de-açúcar foram realizados por *SAMPIETRO et alii (1980)* che-

garam a importantes conclusões sobre as funções fisiológicas de enzimas invertases. Embora os citados autores não tenham feito referências ao K^+ , HARTT (1934), observou que a ausência desse nutriente afetou tanto a síntese como a translocação não só de açúcares como também de proteínas.

Dados experimentais tem mostrado que o K^+ é essencial para produzir altos rendimentos em sacarose e a sua omissão resulta em baixas concentrações desse açúcar no colmo (SAMUELS e LANDRAU, 1952; HUMBERT, 1963).

Trabalhando com cana-de-açúcar (ALEXANDER, 1973 e MADAN *et alii*, 1980) demonstraram que altos rendimentos de açúcar estão relacionados com a presença de invertases nas folhas.

Várias hipóteses têm sido sugeridas, inclusive por aqueles autores, para explicar a divergência desses resultados. Para ALEXANDER (1973), a cana-de-açúcar é considerada, como o único sistema "fonte-reservatório" sobre a Terra, uma vez que nenhum outro organismo possui tão perfeita arte de sintetizar, translocar e armazenar açúcar em quantidades tão maciças.

HARTT *et alii* (1963) estabeleceram que a sacarose após sua biossíntese na folha é o principal composto translocado como tal para o colmo. Subsequentemente, (HATCH e GLASZIOU, 1963, HAWKER e HATCH, 1964; SACHER *et alii*, 1963) explicam que esse fotossintetado é submetido a uma rápida interconversão no tecido do colmo antes de ser acumulado e armazenado nos vacúolos.

Para MADAN *et alii* (1980) parece entretanto plausível, que as invertases presentes na folha, hidrolisem a sacarose em suas hexoses constituintes, as quais subsequentemente entrarão nas vias metabólicas, daí a concentração líquida

de sacarose que é translocada da fonte para o reservatório ser eventualmente diminuída.

Muitos estudos têm sido conduzidos para elucidar os mecanismos responsáveis pelas flutuações no conteúdo de açúcar, durante o ciclo de desenvolvimento da cultura e, embora um grande número de fatores nutricionais e climáticos sejam conhecidos (ALEXANDER, 1964), não se conhecem bem as causas relacionadas com o potássio a nível metabólico.

LUGO-LOPEZ e CAPÓ (1954) enfatizaram os efeitos da temperatura sobre o conteúdo de sacarose. Outros como SAMUELS *et alii*, 1952; SAMUELS *et alii*, 1956; LUGO-LOPEZ, 1954 tem mostrado a importância do solo, dos fertilizantes e variedades. Trabalhando em série, BOWEN (1973; 1975; 1981) mostra os efeitos dos micronutrientes sobre o crescimento e o acúmulo de açúcares nos tecidos de alongação da cana-de-açúcar.

CROCOMO *et alii* (1981) observaram em cana-de-açúcar cultivada em solução nutritiva com diferentes formas nitrogenadas a variação do conteúdo de açúcares redutores e sacarose em função de diferentes idades da planta.

OCHOA-ALEJO (1980) cita um grande número de trabalhos que dão ênfase a importância do nitrogênio sobre o crescimento e metabolismo e produção da cana. Em trabalho subsequente, OCHOA-ALEJO e CROCOMO (1981) trabalhando com três formas de nitrogênio, demonstraram que tanto o crescimento como o conteúdo de açúcares redutores da parte aérea foram maiores nas plantas supridas com nitrato.

Num trabalho paralelo, SILVEIRA e CROCOMO (1981) estudando o efeito do nitrato sobre o metabolismo de cana com seis meses de idade, encontraram baixas concentrações de sacarose e açúcares redutores no colmo, enquanto que SILVEIRA (1980)

utilizando as mesmas condições de cultivo, demonstrou que a existência da relação $K/N=0,94$ (2,33% de K^+ e 2,41% de N-total) nas folhas é considerada ótima para uma concentração máxima de sacarose no colmo.

HUMBERT(1968) trabalhando com seções do colmo maduro de cana-de-açúcar, encontrou uma estreita relação entre o conteúdo de potássio, produção de açúcar, açúcares totais, porcentagem de sacarose e pureza do caldo: a medida que o teor de sacarose aumentava a quantidade de açúcares redutores decrescia.

Embora grande parte dos trabalhos encontrados na literatura, que examinam a relação entre o teor de açúcar e a nutrição das plantas, tratem mais da influência do potássio ou das interações nitrogênio/potássio, é sabido que em termos de nutrição e adubação de cana-de-açúcar, o potássio, supera em quantidade, o nitrogênio, uma vez que esta cultura requer quantidades de potássio, muito mais do que o nitrogênio e qualquer outro macronutriente (VON UEXUELL, 1968 e MALAVOLTA, 1982). Entretanto apesar de existir um certo paralelismo entre potássio e teor de açúcares bem poucos são os trabalhos que interrelacionam potássio com produção de açúcares e atividade de enzimas invertases.

De acordo com ALEXANDER(1965a) de todos os fatores que afetam o conteúdo de sacarose e açúcares redutores em cana-de-açúcar, a invertase, é sem dúvida alguma, a principal responsável e talvez baseada nisso, HARTT(1934) tenha fornecido evidências indiretas de que a sacarose pudesse ser sintetizada na folha por uma invertase e que o potássio fosse provavelmente um ativador específico desta enzima em cana-de-açúcar. Entretanto, estudos enzimáticos feitos por GOODWIN e MERCER(1972), mostram que em cana-de-açúcar a sacarose não é sintetizada pela invertase mas por uma reação envolvendo a sacarose-fosfatossintetase e uma fosfatase, ambas presentes nas folhas, mais especificamente nos cloroplastos, conforme DAVIES(1974).

2.2. Consequências do suprimento inadequado de K^+ no metabolismo da planta

Segundo *EVANS e SORGER (1966)*, uma das formas de se conhecer a função metabólica de um elemento vem a ser através do estudo das consequências de sua deficiência. Esse tipo de investigação as vezes revela dados suficientes, capazes de sugerir os bloqueios metabólicos ou os locais específicos onde tal elemento atua.

O efeito da deficiência de potássio na translocação dos açúcares das folhas para outros órgãos é clássico da literatura; plantas deficientes translocam menos que as bem supridas do elemento (*MALAVOLTA, 1980*).

Em cana-de-açúcar, *HARTT (1934)* mostrou que a deficiência de K^+ podia interferir não somente com a translocação mas também com a transformação tanto anabólica de hexoses e sacarose. Esse estudo parece ter sido o ponto de partida, para uma série de trabalhos visando compreender o significado do K no metabolismo da planta a nível enzimático

Nos resultados de *ALEXANDER (1964)* vê-se que o suprimento inadequado de potássio além de reduzir os teores de sacarose no colmo da cana-de-açúcar, fez cair também o teor de amido; observou-se ainda nesse ensaio, um maior teor de açúcares e de $N-\alpha NH_2$ solúvel; resultados semelhantes foram obtidos por *HARTT (1934)* e *HUMBERT (1963)*.

Enquanto que os mais baixos teores de sacarose no colmo da cana-de-açúcar deficiente em K, pode ser devido a menor produção pela fotossíntese e diminuição no transporte da folha para aquele órgão (*HUMBERT, 1963*); o acúmulo de açúcares redutores é frequentemente atribuído à atividade inadequada de certas enzimas da glicólise e que requerem potássio como cofator (*ALEXANDER, 1964*).

Apesar das evidências desses resultados, *HARTT* (1934) mostrou que outras enzimas da cana-de-açúcar tais como a invertase e a amilase tiveram suas atividades afetadas pela deficiência de potássio, embora pouca atenção tenha sido dada para essas glicosidases.

SHEA et alii (1967) afirmaram que as plantas se diferenciam quanto a utilização de potássio. As plantas de cana-de-açúcar embora eficientes na utilização desse nutriente, podem não apresentar quando deficientes, uniformidade nos padrões dos desarranjos metabólicos. Esses, podem variar quanto a espécie, o estágio de desenvolvimento da planta e a ação de fatores externos (*HATCH*, 1964 e *EPSTEIN*, 1972).

HARTT (1969) mostrou que até mesmo uma ligeira deficiência de K^+ em cana-de-açúcar, diminuía a translocação de assimilados antes mesmo de causar um decréscimo na velocidade de fotossíntese. Essa diminuição na translocação dos assimilados da fotossíntese levou a autora a concluir que a deficiência do K^+ interfere diretamente sobre o desenvolvimento dos sintomas visuais, velocidade de crescimento, teor de umidade, a fixação de CO_2 ou conversão de intermediários a produtos. De qualquer modo a interferência direta da deficiência de K^+ com a fotossíntese se torna provável devido relações do elemento com o cloroplastos (*EPSTEIN*, 1972).

ALEXANDER (1964) por sua vez observou que as aplicações de potássio à solução nutritiva, aumentaram o conteúdo bruto de clorofila nas folhas e a percentagem de sacarose no caldo. Por outro lado, o suprimento inadequado desse nutriente reduziu consideravelmente o teor de clorofila e a taxa de fotossíntese. *HARTT e BURR* (1967) também encontraram correlações positivas entre a baixa taxa fotossintética e baixos teores de K nas folhas de cana-de-açúcar.

HARTT (1970) e ALEXANDER (1973) mostraram que não só a fotossíntese mas também o transporte de carboidratos são influenciados pela falta de K^+ na cana-de-açúcar. Pressupõem os autores que, em tal condição, a sacarose que é o principal fotossintetado de reserva da planta, tenha sua biossíntese e translocação inibidas, por alterações das enzimas envolvidas, principalmente sacarose-sintetase e sacarose-fosfato-sintetase das quais o K é ativador.

Quanto ao processo de respiração em cana-de-açúcar, *DILLEWINJ (1952)* relata que ocorre geralmente em colmo de plantas jovens diminuindo gradualmente com o crescimento do internódio, o que sugere que os tecidos jovens podem conter uma mais alta concentração de CO_2 do que os tecidos mais velhos. O inverso poderá ser verdadeiro para a concentração de oxigênio.

Em folhas de cana-de-açúcar deficiente em K^+ a taxa de respiração aumentou ao mesmo tempo que diminuiu a translocação de assimilados sendo os dois processos afetados antes que a taxa de fotossíntese começasse a diminuir (*HARTT, 1969 e OZBUM et alii, 1965*).

Quanto a utilização do K^+ pelas plantas com particular referência às interrelações entre metabolismo de carboidratos e proteínas, *HARTT (1934)* citando vários autores relata que o acúmulo de carboidratos em plantas deficientes em K^+ é causado principalmente por uma desorganização na síntese de proteínas.

HARTT (1934) demonstrou que as plantas de cana-de-açúcar deficientes em K apresentaram distúrbios na síntese

se e translocação de proteínas e açúcares; necrose no floema; acúmulo de Fe nos nos; forte atividade de amilase e fraca atividade de invertase que foi mais afetada no colmo que na folha.

Muitos outros autores, que tem estudado os efeitos do potássio sobre o metabolismo de plantas de cana-de-açúcar, cultivadas em solução nutritiva, mostram as consequências da deficiência desse íon. Paralelamente, tentam correlacionar os distúrbios metabólicos resultantes à atividade inadequada de muitas enzimas envolvidas no metabolismo de açúcares e que necessitam do K^+ como cofator.

Dentre todos os resultados, os que se apresentam mais estreitamente relacionados com a deficiência de K^+ em plantas jovens de cana-de-açúcar são: a) acúmulo de açúcares redutores e redução de sacarose nas folhas, atribuído principalmente a mesma atividade de fosfohexoisomerase e fosfofrutoquinase apesar da atividade de invertase ter se apresentado reduzida (ALEXANDER, 1964); acúmulo de sacarose e diminuição na atividade de algumas enzimas principalmente β -amilase (ALEXANDER, 1973) e c) diminuição de sacarose e açúcares redutores tanto nas folhas como no colmo ocasionada por alterações metabólicas ao nível enzimático (SILVEIRA, 1980).

A discordância dos resultados é explicada pela diferença de comportamento de uma mesma enzima quando se trabalha com diferentes variedades conforme observaram ALEXANDER (1965a; 1967) e MADAN *et alii* (1980).

HARTT (1934) cita inúmeros autores que mencionam a presença de enzimas tais como diastase, peptase, ereptase, catalase, oxidase, peroxidase, maltase e amilase que tem sido encontradas em tecidos de cana-de-açúcar mas que tem sido insuficientemente estudadas.

Nason (1962) e White (1966), citados por EVANS

e *SORGER (1966)*, relatam que a deficiência de K^+ afeta o conteúdo de proteínas nos tecidos e a atividade de diastase e invertase.

ORLANDO FILHO (1982) citando *Alvarez e Haunk* relata que em plantas com deficiência de K^+ , ocorreu um aumento na atividade hidrolítica de invertase, elevando desse modo, a quantidade de açúcares redutores na cana-de-açúcar.

Inúmeras investigações bioquímicas indicam que o metabolismo dos compostos nitrogenados é grandemente afetado pela deficiência de K^+ . Sob tal condição as plantas apresentam um acúmulo de aminoácidos, amidas e outros compostos nitrogenados bem como redução nos teores de proteína (*EVANS e SORGER, 1966*).

O acúmulo de $N-\alpha NH_2$ solúvel em plantas deficientes em potássio tem sido objeto de algumas controvérsias. Enquanto que alguns pesquisadores apontam como causa principal uma diminuição na síntese de proteínas (*LAWTON e COOK, 1954; KOCH e MENGELE, 1972*) provas apresentadas por *HSIAO et alii (1970)* não aprovam essa hipótese. Esses autores verificaram que nas plantas deficientes, a concentração de proteína até aumentou e somente ocorreu acúmulo de $N-\alpha NH_2$ (= aminoácidos livres) em casos de extrema deficiência.

Existem vários trabalhos relatando que em condições de severa deficiência de K^+ as plantas acumulam aminas tóxicas, principalmente putrescina (*RICHARD e COLEMAN, 1952; SMITH e SINCLAIR, 1967; CROCOMO e BASSO, 1974; BASSO, 1974 e ZAGO, 1978*) que ocorre principalmente nas regiões lesadas com clorose e necrose (*MALAVOLTA, 1980*) das folhas mais velhas (*MEN-*

GEL e KIRBY, 1978).

Outra característica da deficiência de K^+ em cana-de-açúcar é a ocorrência de altos teores de cálcio, magnésio, fósforo e ferro (HARTT, 1934) e mais, N-total, silício e enxofre (DILLEWIJN, 1952). De acordo com este último autor, o aumento do conteúdo de Fe, acumulado nos nós do colmo, pode estimular o desenvolvimento do sistema radicular das plantas deficientes, enquanto que o aumento do N como consequência da deficiência de K^+ , vai afetar a síntese de proteínas, possivelmente por morte dos tecidos condutores.

Quanto aos aspectos morfológicos, a deficiência de potássio em plantas de cana-de-açúcar se revela de modo bastante característico: o crescimento da planta é diminuído, os colmos são finos com os internódios curtos. As folhas mais velhas perdem aos poucos a cor verde, apresentando manchas amareladas que depois ficam pardas e mortas com maior concentração nas pontas e margens. Na superfície superior da nervura principal, aparecem manchas avermelhadas de coloração mais escura na base das folhas, que são mais estreitas do que as plantas normais (DILLEWIJN, 1952; HUMBERT, 1963; HAAG, 1965; VON UEXUELL, 1968; SILVEIRA, 1980 e MALAVOLTA, 1982).

2.3. Função das invertases no metabolismo de açúcares em cana-de-açúcar

A invertase (β -D-frutofuranoside frutohidrolase, EC, 3.2.1.26) catalisa a formação de glicose e frutose a partir da sacarose (α -D-glicopiranosil [α -1-2]- β -D-frutofuranose) conforme mostram KOSHLAND e STEIN (1954) e ALEXANDER (1965a) pela reação:

O equilíbrio desta reação é muito mais a favor dos produtos de hidrólise e todas as tentativas para tornar a reação reversível tem sido mal sucedida, o que mostra que a sacarose não é sintetizada em tecidos de plantas pela reversão da reação catalizada pela invertase (*GOODWIN e MERCER, 1972*), o que vai de encontro com a afirmativa de *HARTT (1934)* que apresentou evidências de que a sacarose é sintetizada pela invertase nas folhas de cana-de-açúcar.

De acordo com *WARD (1953)* e *ALEXANDER (1965a)* vários substratos além da sacarose podem ser hidrolizados tais como rafinose, gentianose, estaquiose e hesperonal. A hidrólise da sacarose segundo estes autores, tem sido frequentemente chamada de inversão, uma vez que é acompanhada por uma mudança de valores positivos (dextro) para negativos (levo) na mistura equimolar de glucose e frutose que pode ser acompanhada por polarimetria. Dessa mudança na rotação ótica surgiu o nome invertase, embora muitos pesquisadores ainda preferam denominá-la de "*Sucrase*" e "*Sacarase*" ou nomes mais específicos como α -glicosidase e β -frutosidase.

A invertase é membro de um grupo de enzimas hidrolíticas denominadas glicosidases encontradas em cana-de-açúcar como é o caso das trealases e β -amilases (*ALEXANDER, 1965a; GLASZIOU e GAYLER, 1972; PRADO et alii, 1978; SAMPIETRO et alii, 1980 e ETCHEBERRIGARAY et alii, 1981*).

ALEXANDER (1969) em estudos comparativos entre a invertase de levedura e a invertase de cana-de-açúcar, observou que a invertase de levedura possuía somente atividade β -frutosidase enquanto que a invertase dos tecidos jovens da cana era um complexo formado de três carboidrases: β -frutosidase,

α -galactosidase e α -glicosidase. Assim, contrariamente à levedura que é uma forma de vida primitiva, uma planta superior tal como a cana-de-açúcar, requer para as transformações fisiológicas e bioquímicas de carboidratos, um complexo enzimático de maior grau de versatilidade (ALEXANDER, 1969). Esses fatos estão de acordo com WARD (1953), o qual através de estudos chegou a conclusão de que a invertase de levedura parece ter atividade de uma enzima simples, ao contrário da atividade de invertase de cana-de-açúcar que parece ser constituída de diferentes tipos de enzimas, organizadas em um complexo multienzimático, diferenciadas pelas suas propriedades cinéticas (SHANON, 1968) e localização celular (PRADO et alii, 1978).

ALEXANDER (1965a) sugeriu que dentro do grupo "invertase ácida" existem pelo menos duas enzimas e que as α -glicosidases podem servir como constituintes para o mecanismo de degradação dos polissacarídeos em cana-de-açúcar.

QUIROGA et alii (1977) demonstraram que as invertases do colmo de cana-de-açúcar estão acompanhadas de outras glicosidases tais como α e β -galactosidase.

No esquema da Figura 1, ALEXANDER (1965a) mostra as glicosidases encontradas normalmente em plantas jovens de cana-de-açúcar.

GAYLER e GLASZIOU (1972) encontraram em cana-de-açúcar três formas de invertase, tendo diferentes valores de pH ótimo (3,8; 5,5 e 7,1). Suas localizações na célula e funções fisiológicas foram por eles examinadas durante o crescimento e a maturação do colmo. No desenvolvimento do internódio, onde existem dois estágios distintos de desenvolvimento celular, eles encontraram diferentes sistemas de invertases: o invertase ácida solúvel (pH 5,0 - 5,5) apareceu em grandes quantidades tanto no espaço externo como no parênquima de armazenamento duran

Figura 1 - Funções de α -glucosidases nas transformações catabólicas de carboidratos em cana-de-açúcar.

te todo o processo de divisão e diferenciação celular, desaparecendo gradualmente quando o internódio parou de crescer. As células maduras continham uma invertase ácida insolúvel ligada à parede celular (pH 3,8) e uma invertase neutra (pH 7,0-7,1) que aumentou durante a maturação. HATCH e GLASZIOU (1963); SLACK (1965); HAWKER e HATCH (1965); GLASZIOU e GAYLER (1972) e ALEXANDER (1973) encontraram esses mesmos resultados.

As invertases encontradas em cana-de-açúcar são consideradas enzimas oligoméricas (ALEXANDER, 1967 e MARETZKI e ALEXANDER, 1967) que exigem Mn^{2+} como cofator conforme demonstraram ALEXANDER (1965a) e QUIROGA *et alii* (1977).

HARTT (1934) apresentou evidências de que o K^+ é um ativador específico de invertase em cana-de-açúcar, mostrando que a interrelação potássio/enzima pode ser: 1) direta, através da inclusão do K^+ na composição química da enzima ou através do seu efeito como ativador; 2) indireta, regulando a concentração de íon hidrogênio, ou o sistema tampão e, 3) antagônica, contrabalançando os efeitos dos fatores inibitórios. Apesar disso, a literatura sobre o efeito do K^+ como ativador de invertase em cana-de-açúcar é escassa embora recentemente, MATSUSHITA e URITANI (1974) tenham sugerido que o Na^+ e K^+ são ativadores de invertases em batata doce.

HATCH *et alii*, 1963; HAWKER e HATCH, 1965; GLASZIOU e GAYLER, 1972; SAMPIETRO *et alii*, 1980 em muitos de seus trabalhos tem mostrado que as invertases presentes em cana-de-açúcar estão divididas em dois grupos de enzimas: um grupo consiste de invertases da parede celular e o outro de enzimas intracelulares tendo ambos os grupos diferentes funções fisiológicas. As invertases da parede celular estão envolvidas com o mecanismo de translocação de sacarose do apoplasto para o simplasto de cana-de-açúcar, enquanto que as enzimas intracelulares estão provavelmente envolvidas com a mobilização da saca

rose no vacuolo, ou seja, estão ligadas ao metabolismo celular. SAMPIETRO *et alii*, (1980) e VATTUONE *et alii*, (1981).

Em tecidos imaturos e adultos da bainha de folhas de cana-de-açúcar, VATTUONE *et alii* (1981), também encontraram um complexo de três diferentes invertases firmemente ligadas à parede celular que diferem em K_m , pH ótimo e resposta a inibidores. Este complexo de invertases dos tecidos imaturos difere de uma única enzima alcalina ou neutra que aparece nos caules maduros.

Conforme GAYLER e GLASZIOU (1972) uma das mais importantes funções da invertase ácida é suprir a célula de glucose e frutose que pode aumentar em hexoses e não em sacarose, como observaram em internódios imaturos de cana-de-açúcar, enquanto que a invertase neutra que parece fazer parte do sistema que controla o fluxo de açúcares em tecidos maduros.

ALEXANDER e SAMUELS (1968) e ALEXANDER (1973) tem subsequentemente relatado que as invertases não estão presentes em folha de cana, enquanto que PRADO *et alii* (1979) e SAMPIETRO *et alii* (1980) encontraram essas enzimas na bainha da folha. Esses dados estão de comum acordo com HATCH *et alii* (1963) que isolaram uma invertase ácida na folha e na bainha de plantas jovens de cana. A invertase ácida de tecidos jovens armazenadores mostraram uma notável variação sazonal de atividade: o período de maior atividade correspondeu ao período de maior crescimento.

Segundo ALEXANDER (1973) a bainha foliar é o órgão ideal para se estudar a atividade de invertase por ser o suporte dos órgãos condutores, servindo como uma ponte de ligação entre o local de síntese (limbo foliar) e o de armazenamento (colmo). É através da bainha que a sacarose passa para o parênquima de armazenamento do caule.

Para GAYLER e GLASZIOU (1972) a invertase ácida solúvel é secretada na região meristemática durante a fase de formação das células, predeterminando nestas, a disponibilidade de carboidratos que serão utilizados durante a fase de crescimento. Nesta fase nenhuma enzima mais é secretada e aquelas existentes são inativadas lentamente à medida que o tecido se torna adulto.

A esse respeito SAMPIETRO *et alii* (1980) observaram que em cana-de-açúcar altas concentrações de sacarose podem suprimir parcial ou totalmente a função reguladora da invertase ácida que passa a ser exercida pela invertase neutra indicando a maturidade do tecido para acumular sacarose.

Em relação ao potássio poucos autores além de HARTT (1934) e ALEXANDER (1964) tem observado os seus efeitos sobre a atividade de invertase embora esta enzima e a síntese de sacarose desempenhem funções importantes e que, juntas respondem principalmente pelo metabolismo bioquímico de síntese e armazenamento de sacarose em cana-de-açúcar.

Os autores mostram uma correlação existente entre o padrão enzimático do colmo em crescimento e a deficiência de potássio, sendo de grande importância o estudo da evolução enzimática do colmo utilizando-se diferentes níveis de potássio. A existência de uma correlação positiva entre a quantidade de potássio fornecido e o teor de açúcar armazenado também foi apresentada: a concentração de açúcar no colmo dependeu do grau de deficiência de K^+ . Na deficiência branda, as plantas parcialmente destituídas de K^+ continham mais açúcares redutores e menos sacarose do que as plantas normais; na deficiência severa, as plantas totalmente privadas de K^+ o teor de açúcares redutores foi tão baixo quanto o de sacarose.

GAYLER e GLASZIOU, 1972, citando Hatch e Glasziou, 1964 relatam que todo carboidrato proveniente da folha está na forma de sacarose. Esta não pode penetrar na membrana celular sem a prévia hidrólise por uma invertase (HAWKER e HATCH, 1965; SACHER *et alii*, 1963 e BOWEN, 1972). Devido a isto ficou evidenciado a função fisiológica de invertases não somente na utilização de sacarose mas também nos processos de armazenamento de açúcar (PRADO *et alii*, 1978).

Estudos sobre o movimento de açúcar nas células do parenquima celular indicaram que a invertase ácida solúvel está localizada em dois compartimentos celulares - no espaço externo e no compartimento armazenador no qual pode estar incluído o vacuolo (SACHER *et alii*, 1963). E desde que a inversão da sacarose parece constituir um pre-requisito para a sua entrada no metabolismo, considera-se que no espaço externo a enzima regula o movimento da sacarose no tecido, enquanto no espaço interno do tecido armazenador, ocorre a inversão da sacarose mediada pela enzima que é inativada durante os estágios de maturação (GLASZIOU, 1962). Segundo este autor, o mecanismo pelo qual a sacarose é invertida em tecidos armazenadores de cana-de-açúcar tem sido estudado por muitos autores e todos os resultados mostram que uma enzima do tipo invertase é a responsável pela inversão.

SACHER *et alii* (1963) demonstraram que a sacarose é invertida na passagem do espaço externo para o interior do compartimento armazenador onde reaparece como sacarose. É provável que a sacarose seja ressintetizada no compartimento metabólico da célula e armazenada no compartimento armazenador.

Estudos relacionados com o mecanismo de acumulação de sacarose nos tecidos de armazenamento de cana-de-açúcar tem mostrado importantes conclusões sobre a função fisiológica das enzimas invertases (SAMPIETRO *et alii*, 1980). Essas en-

zimas juntamente com a sacarose sintetase (E.C.2.4.1.13) desempenham funções específicas, como sejam, a hidrólise, a síntese e armazenamento de sacarose (ALEXANDER, 1973). De acordo com este último autor, a sacarose é rapidamente hidrolisada pela atividade de uma invertase ácida vacuolar e, no citoplasma, as hexoses resultantes são utilizadas durante o metabolismo de crescimento celular.

O ciclo de acumulação de açúcares em tecidos de armazenamento de colmo de cana-de-açúcar tem sido sugerido por vários autores entre eles GLASZIOU (1961), SACHER *et alii* (1963), HATCH e GLASZIOU (1963) e HATCH (1964) tentando explicar o mecanismo de acúmulo de açúcares a nível celular. Segundo o esquema proposto por HATCH (1964) a hidrólise da sacarose pela invertase foi o primeiro passo para a acumulação de açúcares, enquanto que o composto que se move através da membrana é a sacarose-fosfato (SACHER *et alii*, 1963). Os passos que levam a formação de UDP-glucose e hexoses-fosfatos tem sido relatados por HATCH *et alii* (1963) e SACHER *et alii* (1963).

HATCH (1964) relata que a síntese e subsequente hidrólise da sacarose poderia prover um gasto de energia necessária para as condições termodinâmicas do processo. Embora a literatura sobre os efeitos do K^+ sobre de invertase seja escassa, ALEXANDER (1965a) cita inúmeros trabalhos em que HARTT correlaciona atividade da enzima com áreas de formação de açúcares e suprimento de potássio, em cana-de-açúcar.

Os efeitos benéficos de K^+ no transporte de fotossintetados à longa distância, foram descritos por HARTT (1969) para a cana-de-açúcar enquanto que HATCH *et alii* (1963) enfatiza a participação da enzima invertase na translocação de sacarose para o colmo. De acordo com BERINGER (1982) nos processos que levam a produção, à luz das relações fonte-reservatório, o K^+ parece agir como um estimulador da fonte, isto é, do suprimento de fotossintetados para os órgãos de armazenamento.

Embora nos diferentes trabalhos que tratam das funções do potássio como ativador enzimático, não se encontre dados concretos de que ele seja ativador específico de invertase em cana-de-açúcar, vários autores tem investigado em outras plantas, as relações entre atividade de invertase e estágios de desenvolvimento (ROBINSON e BROWN, 1952; WARD, 1953; SEITZ e LANG, 1968; HELLEBUST e FORWARD, 1962; MACHACHLAN et alii, 1970; JONES e KAUFMAN, 1975; SUM et alii, 1980 e HUMPHREIS e ECHEVERRIA, 1980).

Outros autores como JONES (1966), RICARDO e SOVIA (1974) estudaram os efeitos da deficiência de nutrientes minerais sobre a atividade de invertases em sucessivos estádios de desenvolvimento das plantas.

Num trabalho realizado por ROBINSON e BROWN (1952) eles sugerem que dois diferentes sistemas de invertases e que hidrolizam a sacarose podem estar presentes em diferentes segmentos da raiz de feijão em desenvolvimento. Esses autores postularam que o crescimento da célula depende das mudanças relativas do desenvolvimento, envolvendo uma sucessão de estágio metabólico o que foi observado em cada segmento da raiz.

HELLEBUST e FORWARD (1962) trabalhando com segmentos de raízes de milho e RICARDO e SOVIA (1974) com raízes tuberosas, estudaram a distribuição da atividade de invertase em regiões de crescimento nos sucessivos estádios de desenvolvimento, incluindo ainda o estudo da distribuição do teor de sacarose e açúcares livres, principalmente glucose e frutose sendo que os últimos autores, ainda relacionaram atividade de invertase com acumulação de açúcares e nutrição mineral.

Enquanto que MACLACHLAN et alii (1970) observaram em seções de epicotilo de ervilhas em sucessivos estádios

de desenvolvimento, notáveis diferenças entre os níveis de glucose e frutose que foram devidas a mudanças na velocidade de transporte, utilização ou formação de uma ou de outra hexose.

Assim, elevadas atividades de invertase ácida que são característicos das células vegetais em desenvolvimento poderia ser um pré-requisito para preencher a grande demanda de hexoses requeridas para um rápido desenvolvimento. Vários estudos tem de fato sugerido uma estreita relação entre os tecidos de crescimento e a atividade de uma invertase ácida (ROBINSON e BROWN, 1952; HELLEBUST e FORWARD, 1962; HATCH e GLASZIOU, 1963; MACLACHLAN *et alii*, 1970).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Cultivo das plantas e preparo do material

O ensaio foi conduzido em casa de vegetação, com solução nutritiva, utilizando plantas jovens de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. var. NA59-76) obtidas de calos pelo método de *CROCOMO et alii* (1979) e cedidas pelo laboratório de Cultura de Tecidos da Seção de Bioquímica de Plantas do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), em Piracicaba, São Paulo.

As plantinhas que há 3 semanas cresciam em copos plásticos com vermiculita sob condições controladas de uma câmara de crescimento, foram transferidas para bandejas com capacidade para 40 litros contendo 30 litros da solução nutritiva completa de *HOAGLAND e ARNON* (1950) diluída na proporção de 1:10 e que serviu como suporte inicial para o crescimento, aí permanecendo por 30 dias.

Após esse período, as plantas distribuídas ao acaso foram transplantadas para outras bandejas contendo 30 litros das soluções nutritivas definitivas, preparadas conforme *SARRUGE* (1975) e cujas composições são apresentadas na Tabela 1. Cada solução correspondeu a um tratamento que consistiu na presença de todos os nutrientes e na omissão de K^+ que foi adicionado separadamente nas concentrações de 0,1, 6,0 e

Tabela 1 - Composição das soluções nutritivas utilizadas.

Solução Estoque	Solução base	T r a t a m e n t o s		
		0,1 mM	6 mM	12 mM
Ca(NO ₃) ₂ M	5 ml			
MgSO ₄ M	2 ml			
NH ₄ H ₂ PO ₄ M	1 ml			
NH ₄ NO ₃ M	2 ml			
KCl M		0,1 ml	6,0 ml	12,0 ml
Micronutrientes*	1 ml			
FeEDTA**	1 ml			

As concentrações de KCl são 0,1 mM, 6 mM e 12 mM.

*A solução de micronutrientes contém 2,86 g de H₃BO₃; 1,81 g de MnCl₂.4H₂O; 0,21 g ZnCl; 0,04 g de CuCl₂ e 0,02 g de H MoO₄.H₂O em um litro.

**A solução de Fe-EDTA contém 26,1 g de EDTA dissódico (ácido) em 286 ml de NaOH 1 M e 24,9 de FeSO₄ 7H₂O por litro.

12,0 mM. Utilizou-se como fonte de potássio o KCl, correspondendo cada concentração respectivamente aos tratamentos, K_1 , K_2 e K_3 .

Durante o experimento (60 dias) as plantas foram mantidas nessas soluções cujo pH variou de 5,5 a 6,0.

De 10 em 10 dias procedeu-se a substituição das soluções nutritivas e os volumes iniciais foram completados sempre que necessário. A cada 20 dias, plantas de cada tratamento foram colhidas e separadas em parte aérea e raiz que foi desprezada.

A parte aérea destinada às determinações, foi dividida em três segmentos (Figura 2) que variaram de 10 cm (aos 20 dias) até 50 cm (no final do experimento). Cada segmento foi cortado em pedacinhos, acondicionado em sacos de papel de alumínio devidamente etiquetados e levado para liofilizar até peso constante.

Após a liofilização, todo esse material foi pesado obtendo-se os dados de matéria seca, depois moído, colocado em frascos de vidros e guardado em dessecadores na câmara fria, para análises posteriores.

Dados de crescimento, atividade de invertase ácida e invertase neutra, teor de K^+ , conteúdo de carboidratos como sacarose, açúcares redutores, açúcares redutores totais e de compostos nitrogenados como proteínas, N-total e N- α -NH₂ solúvel foram obtidos dos diferentes segmentos.

Conforme a Figura 2, cada segmento da parte aérea da planta, correspondeu respectivamente aos tecidos: (a) da bainha/colmo (segmento inferior), (b) do colmo/folha (segmento médio e (c) somente das folhas (segmento superior).

Figura 2 - Diagrama dos segmentos de parte aérea de cana-de-açúcar em cada um dos quais, foram feitas as diferentes análises.

3.2. Análises químicas

3.2.1. Determinação de carboidratos

3.2.1.1. Açúcares redutores (AR), açúcares redutores totais (ART) e sacarose

3.2.1.1.a) Extração

Os açúcares redutores foram extraídos pelo método descrito por *OCHOA-ALEJO (1980)*. Amostras de 100 mg de material liofilizado e pulverizado, aquecido em banho-maria a 85°C por 15 minutos com 4 ml de etanol a 80% e logo após o resfriamento, centrifugado a 6.000 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante foi coletado e reextraído por mais duas vezes com 3 ml de etanol, juntando-se no final, os 3 extratos e completando ao volume de 10 ml com etanol a 80%. O sedimento foi reservado para posterior extração de proteína.

Os açúcares redutores totais (ART) foram extraídos submetendo-se o extrato alcoólico (2 ml) à ação de 4 ml de HCl 0,75 N que hidrolizou os oligossacarídeos nele contidos à temperatura de 65°C, durante 30 minutos. A seguir, esse hidrolizado foi neutralizado com 4 ml de NaOH 0,75 N e levado ao volume de 10 ml com água destilada conforme modificações ao método de *AMORIN e ZAGO (1978)*.

3.2.1.1.b) Quantificação

O conteúdo de açúcares redutores (AR) e Açúcares Redutores Totais (ART) foi determinado pelo método de *NELSON (1944)*. Aliquotas de respectivamente 0,1 e 0,2 ml foram co

locadas em tubo de ensaio completando-se 1 ml com água destilada. Foram adicionados 1 ml do reagente cupro-alcalino de *SO-MOGYI (1945)* agitando as misturas e aquecendo em banho-maria a 100°C durante 10 minutos. Após o resfriamento foi adicionado em cada tubo 1 ml do reagente de Nelson, agitando-se bem e juntando com agitação, 4 ml de água destilada.

A leitura foi feita a 530 nm em espectrofotômetro contra um branco preparado com água destilada em lugar da amostra.

O valor de absorbância foi interpolado em uma curva padrão de glucose.

O teor de sacarose foi estimado pela diferença entre ART-AR, multiplicada pelo fator 0,95 que corresponde à molécula de água de hidrólise.

3.2.2. Determinação dos compostos nitrogenados

3.2.2.1. Proteína

3.2.2.1.a) Extração

A proteína foi extraída com solução de NaOH 1N a partir do sedimento que restou da preparação do extrato alcoólico para determinação de açúcares redutores e N.αNH₂ solúvel. Depois de separadas por centrifugação a 6.000 rpm durante 10 minutos, o sedimento foi retomado em NaOH 1N e novamente centrifugado. Os líquidos resultantes das duas extrações foram colocados em balão de 10 ml, completando-se o volume com o NaOH 1N, conforme descreve *OCHOA-ALEJO (1980)*.

3.2.2.1.b) Quantificação

A proteína foi determinada pelo reagente de Folin-Ciocalteu segundo *LOWRY et alii (1951)*. Aos tubos de ensaio contendo 0,2 ml de extrato diluído cinco vezes (0,5 ml: 2 ml de água) foi adicionado água destilada na quantidade suficiente para completar 0,4 ml e 2 ml do reativo de tartarato cuproalcalino, agitando-se rapidamente. Esperou-se 10 minutos e acrescentou-se com agitação 0,2 ml do reagente de Folin-Ciocalteu 1 N. Após um período de 30 minutos, leu-se a 660 nm, contra um branco cujo volume foi substituído por água destilada.

A concentração de proteína foi calculada utilizando uma curva padrão feita com a fração V da Albumina de sorro bovino BSA (da Sigma Chemical Company).

3.2.2.2. Nitrogênio solúvel em álcool

3.2.2.2.a) Extração

O nitrogênio solúvel em álcool ($N.\alpha NH_2$) foi extraído a partir do extrato alcoólico, descrito por *OCHOA-ALEJO (1980)* que foi utilizado para a determinação de Açúcares Redutores.

3.2.2.2.b) Quantificação

O N-solúvel foi determinado pelo método de *KABAT e MAYER (1967)*. A mistura de reação consistiu em aquecer a 85°C por 5 minutos, 0.2 ml do extrato alcoólico com 0,4 ml do reagente de ninidrina. Após o resfriamento acrescentou-se 2 ml de etanol a 50% e procedeu-se a leitura a 570 nm em es-

pectrofotômetro, contra um branco preparado com água destilada em lugar da amostra.

Os valores de absorbância foram comparados com os valores de uma curva padrão de glicina.

3.2.2.3. Nitrogênio total

3.2.2.3.a) Extração

O N-total foi extraído através da digestão sulfúrica descrita por *JØRGENSEN (1977)*.

Amostras de 50 mg de material seco e pulverizado foram digeridas em balões Kjeldahl com 7 ml de uma mistura (solução digestora) contendo: 1 g de Selenito de Sódio Anidro; 21,39 g de Na_2SO_4 ; 4 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 200 ml de H_2SO_4 concentrado e 175 ml de água, até formação de vapores esbranquiçados que se transformam numa solução límpida. Após o resfriamento, juntou-se água destilada pelas paredes do balão transferindo-se a mistura para o aparelho de destilação.

3.2.2.3.b) Quantificação

O N-total foi determinado pelo método de Kjeldahl. Procedeu-se à destilação em meio alcalino, e a amônia desprendida foi captada por solução titulada de ácido em presença de um indicador. A porcentagem de nitrogênio foi calculada a partir do volume de H_2SO_4 0,1 N necessário para titular a NH_3 da amostra.

3.2.3. Determinação do potássio

3.2.3.1. Extração

O K foi extraído através da digestão com o ácido perclórico de acordo com *JØRGENSEN (1977)*: 250 mg de material seco e moído foram transferidos para tubos de digestão de 75 ml. Adicionou-se com agitação 2,5 ml de HNO_3 concentrado, deixando-se à temperatura ambiente por uma noite. No dia seguinte os tubos foram colocados no bloco de digestão à temperatura de 160°C . Após 15 minutos aproximadamente, quando os vapores começaram a subir e no fundo do tubo surgiu uma colocação clara (que significa evaporação da maior parte do HNO_3), os tubos foram retirados do bloco. Alíquotas de 0,7 ml de ácido perclórico concentrado foram adicionadas aos tubos que foram recolocados a seguir no bloco à temperatura de 210°C . A digestão ficou completa, 30 minutos depois com o surgimento de uma fumaça branca densa de $\text{HClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ e a obtenção de uma solução incolor. Após o resfriamento, os extratos foram diluídos para 25 ml com água destilada.

3.2.3.2. Quantificação

O potássio foi determinado a partir dos extratos diluídos por espectrofotometria de absorção atômica segundo o método de *ZAGATTO et alii (1981)*.

3.3. Análise enzimática

3.3.1.a) Preparação do extrato enzimático

Amostras de 200 mg de material seco e pulverizada

do, de segmentos da parte aerea de cana-de-açúcar, foram homogenizados em almofariz gelado na presença de nitrogênio líquido com 10 ml de tampão Na-Pi 10 mM pH 7,5 contendo Mercaptoetanol 1 mM e MnSO_4 5 μM , de acordo com o método de *PRADO et alii* (1979) modificado. Após a homogeneização o extrato foi espremido em musseline e centrifugado a 13.000 rpm durante 10 minutos. O precipitado foi descartado e o sobrenadante suspenso com o mesmo volume de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ saturado. Depois de 24 horas em câmara fria centrifugou-se à 13.000 rpm durante 20 minutos e o sobrenadante foi descartado. O precipitado foi dissolvido em 1 ml de água destilada e utilizado como fonte das enzimas.

3.3.1.b) Determinação da atividade enzimática

As atividades de Invertase Ácida (pH 5,5) e Invertase Neutra (pH 7,1) foram determinadas pelo método de *SAMPIETRO et alii* (1980) com algumas modificações. Todas as operações foram levadas a efeito à temperatura de 4°C. A mistura de reação consistia de 200 μl de sacarose 0,6 M; 50 μl de enzima diluída; 250 μl de tampão desejado: Tampão Acetato 0,2M pH 5,5 ou Tampão Fosfato 0,2 M pH 7,1 e água destilada para completar o volume de 1.000 μl . O sistema foi incubado a 37°C por 1 hora e a reação paralizada com 1 ml do reagente cuproalcalino de *SOMOGYI* (1945). A quantidade de açúcares redutores liberado foi determinada pelo método descrito por *NELSON* (1944).

A atividade específica das enzimas foi expressa em mg de glucose formada por hora e por 200 mg de matéria seca à 37°C a pH 5,5 ou 7,1.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Interação "Potássio/Crescimento/Atividade de Invertases"

Os níveis de K^+ na solução nutritiva afetaram marcadamente as plantas de cana-de-açúcar que apresentaram diferenças quanto ao aspecto morfológico e de desenvolvimento.

Com relação ao crescimento, as diferenças foram mais nítidas entre as plantas mantidas em baixo nível de K^+ (tratamento K_1) que mostraram uma redução no tamanho antes de apresentarem sintomas visíveis de deficiência. O aparecimento destes, ocorreu aos 30 dias após o transplante, primeiramente nas folhas mais velhas e que concordam com aqueles descritos por *DILLEWIJN (1952)*, *HUMBERT (1963)*, *HAAG (1965)*, *SILVEIRA (1980)* e *MALAVOLTA (1982)*.

As plantas correspondentes aos demais tratamentos (K_2 e K_3) não apresentaram qualquer sintoma de deficiência e tiveram um desenvolvimento ótimo de parte aérea, o que pode ser avaliado pela produção de matéria seca apresentada na Tabela 2. Apesar disso as plantas do tratamento K_3 mostraram-se mais desenvolvidas quanto ao aspecto vegetativo do que as plantas do tratamento K_2 , consideradas "*normais*". Verifica-se por esses dados que o teor de matéria seca no segmento inferior da-

quelas plantas(K_3) é ligeiramente maior do que nos segmentos inferiores das plantas dos tratamentos K_1 e K_2 que estatisticamente não diferiram entre si. A diferença, contudo, residuiu na parte vegetativa, provavelmente devido a diminuição dos internódios das plantas deficientes em potássio, o que determina uma diminuição da quantidade de matéria seca na região colmo/folha.

Estes resultados concordam com aqueles obtidos por *GLOVER (1973)* que atribuiu essa diferença ao maior tamanho do colmo em relação às outras partes da planta.

Através da Figura 3 verifica-se que, com exceção do segmento inferior das plantas do tratamento K_3 , o acúmulo de matéria seca pelos demais segmentos foi inicialmente lenta até os 40 dias após o transplante, aumentando no período de 40 a 60 dias.

Comparando a curva de crescimento dos segmentos da cana-de-açúcar com uma curva típica do crescimento de um vegetal (ambas expressas em função do peso seco), observa-se que houve concordância com a opinião de *MAGALHÃES (1979)*. Como a cana-de-açúcar utilizada no presente ensaio possui apenas 90 dias de idade, observa-se que ficou bem caracterizado somente duas fases da ontogenese da planta: uma fase inicial, em que o crescimento foi lento e outro de rápido aumento de tamanho, em que os processos metabólicos dependentes da fotossíntese se traduzem por um rápido crescimento.

Observa-se ainda que o segmento inferior das plantas do tratamento K_3 parece ter atingido mais cedo do que os outros, o seu ponto máximo de crescimento (aquele em que teoricamente, a acumulação de matéria seca é máxima), indicando com isso precocidade. Esse resultado pode ser devido ao excesso de K^+ em contato com o sistema radicular, o que provocaria maior absorção e translocação do íon para a parte aérea.

Figura 3 - Variações nos teores de matéria seca nos segmentos de parte aérea de plantas de cana-de-açúcar tratadas com diferentes níveis de potássio.

Através da Tabela 3 verifica-se que os teores de potássio nos segmentos das plantas desenvolvidas nas soluções nutritivas deficientes, foram significativamente inferiores aos obtidos nas soluções com níveis adequados de K^+ .

Os dados indicam que houve uma correlação positiva entre os níveis de K^+ do substrato e a quantidade de K que foi absorvida pela cana-de-açúcar. Segundo MALAVOLTA (1982) o acúmulo excessivo de K na célula é importante não apenas para o balanço hídrico da planta como também para ativação de enzimas. Todavia, os dados de atividade de invertase, principalmente de invertase ácida não concordam com essa afirmativa pois seus maiores valores foram detectados em condições de deficiência. Resultados semelhantes foram encontrados por HARTT (1934), que relata não ser o K essencial para a formação de invertase em cana-de-açúcar.

Através da Figura 4 observa-se que de modo geral, os diferentes segmentos mostraram uma tendência de diminuir o teor de K^+ com o aumento da idade da planta. Digno de nota é o elevado conteúdo de potássio que ocorreu nos tecidos da bainha/colmo (segmento inferior) das plantas dos tratamentos K_2 e K_3 , diminuindo à medida que se aproximava do ápice.

Esses resultados estão de acordo com BAVER (1960) que estudando a composição química das partes da cana-de-açúcar, demonstrou que o teor de K^+ da bainha é maior do que o da região bainha/folha e que o conteúdo no colmo é muito maior do que nas folhas. Embora no presente ensaio não se tenha estudado tais partes isoladamente, nota-se que esses resultados estão relacionados com as partes das plantas correspondentes aos segmentos inferior e médio, o que explica a predominância de K^+ naqueles tecidos.

BURR et alii (1957) citando Burr e Tanimoto

Figura 4 - Variações nos teores de potássio nos segmentos de parte aérea de plantas de cana-de-açúcar mantidas em solução nutritiva.

(1955) relatam que a concentração de potássio, tanto nas plantas bem supridas como nas deficientes, são mais evidentes em cana-de-açúcar adulta do que em tecidos de plantas jovens como é o caso do presente ensaio. Essa pode ser portanto uma das possíveis causas, dentro de certos limites dos erros experimentais, das variações observadas em relação aos teores de K^+ e matéria seca.

A diminuição percentual observada na concentração foliar de K^+ das plantas do tratamento K_2 e K_3 , pode ter sido resultado de uma diluição do íon a medida que a planta se desenvolve. Observa-se que na região colmo/folha desses tratamentos, o teor de K^+ aumentou, enquanto que na baínha/colmo, diminuiu. Isto poderia ser uma manifestação do efeito da translocação do íon da baínha/colmo para os órgãos vegetativos da planta, perdendo-se depois devido à lavagem do K^+ da parte aérea (MALAVOLTA, 1980).

É importante ressaltar que o efeito do K^+ é altamente significativo e os dados mostram que ele estimula o crescimento de plantas jovens de cana-de-açúcar. Entretanto, quando se examina o comportamento do potássio dentro de cada segmento, verifica-se que não houve diferença significativa em relação à produção de matéria seca denotando com isso que a idade da planta teve um efeito mais positivo sobre o crescimento do que os níveis de potássio. Esses resultados estão de acordo com os apresentados por ALEXANDER (1964) em plantas jovens de cana-de-açúcar em condições de estresse de NO_3^- e K^+ .

Uma boa parte dos trabalhos da literatura que descrevem os efeitos do potássio em vários processos bioquímicos e fisiológicos, dão ênfase os seus efeitos benéficos sobre o crescimento e desenvolvimento vegetativo, incluindo divisão celular, alongamento, diferenciação e outros processos anabólicos dependentes da fotossíntese e que se traduzem por um

rápido crescimento. De acordo com *BLANCHET et alii* (1962) a participação do potássio no processo de fotossíntese faz com que esse íon participe decisivamente na taxa de crescimento estando esta ação ligada à sua importância na retenção de água e portanto na turgescência das células vegetais.

MENGEL (1982) relata que a produção de matéria seca é menos sensível a um suprimento inadequado de potássio do que a turgescência dos tecidos jovens. Normalmente o potássio é "bombeado" em grandes quantidades nas células meristemáticas dotando-as de uma elevada turgescência que é um pré-requisito para a expansão celular e indiretamente para a divisão celular e crescimento. Esses resultados levam à sugestão de que os níveis de K^+ no presente ensaio exerceram efeito de natureza mais indireta, uma vez que as curvas de crescimento das plantas seguiram o padrão geral observado para outras culturas quase que totalmente independente da concentração empregada.

De um modo geral, tem sido observada uma correlação entre taxa de crescimento e atividade de invertases. Estudos feitos por *ROBINSON e BROWN*, 1952; *HELLEBUST e FORWARD*, 1962; *HATCH e GLASZIOU*, 1963; *SEITZ e LANG*, 1968; *MACLACHLAN et alii*, 1970 e *KAUFMAN et alii*, 1973 mostram uma estreita correlação entre tecidos de plantas em desenvolvimento e atividade de invertase ácida. Associado com a presença de alta atividade de invertase ácida parece estar a incapacidade de um tecido jovem em acumular sacarose.

Em colmo de cana-de-açúcar *HAWKER e HATCH* (1965) relatam que a invertase ácida solúvel é encontrada somente nos tecidos jovens, enquanto que nas partes mais maduras a enzima está ligada à parede celular. Assim, quando o crescimento cessa espontaneamente ou sob influência de inibidores, a atividade de invertase diminui. Por outro lado, a invertase não é a-

penas sintetizada mas é também degradada durante o crescimento, o que significa que ela está continuamente sofrendo mudanças, uma vez que, sua meia-vida em plantas de cana-de-açúcar é cerca de apenas 2 horas conforme observações de *Glasziou*, citado por *SEITZ e LANG (1968)*. Essas mudanças originam-se de células com um sistema de controle mais efetivo sobre o nível de atividade enzimática e por consequência sobre o nível de utilização de açúcares que poderiam se originar somente pelas variações na intensidade de síntese da enzima. Os resultados indicam que a ação de invertase está correlacionada ao crescimento e produção de açúcares. E desde que a produção de matéria seca em cana-de-açúcar é derivada da sacarose a qual antes de ser metabolizada é hidrolisada por invertases, deve existir alguma relação entre ação dessas enzimas, aumento do teor de matéria seca e velocidade de crescimento celular (*GAYLER e GLASZIOU, 1972*).

4.2. Interação Potássio/Acúmulo de Açúcares/Atividade de Invertases

O efeito dos níveis de potássio sobre os teores de açúcares nos segmentos de parte aérea de plantas jovens de cana-de-açúcar são apresentados nas Tabelas 4, 5 e 6.

Verifica-se pela análise dos dados que ocorreram diferenças significativas entre os teores de açúcares (AR, ART e Sacarose) nos três níveis de potássio. Observa-se também, que a presença de K^+ em concentração intermediária (6,0mM) promoveu aumento nos teores de sacarose e açúcares redutores totais (ART) e diminuição no conteúdo de açúcar redutor na relação colmo/folha (segmento médio) que entretanto aumentou após os 40 dias até o final do experimento. Verifica-se por outro

lado, que no tecido das folhas (segmento superior), o conteúdo de açúcares redutores foi bastante elevado nesse período. A partir daí, ocorreu uma diminuição desses açúcares, à medida que a sacarose aumentou. Esses resultados podem ser interpretados com base nas exigências do K^+ , em concentrações adequadas, nos estádios iniciais do desenvolvimento, uma vez que, a duração do presente ensaio coincidiu com a fase de crescimento linear (Figura 3). Sabe-se, pelos dados da literatura, que na fase inicial do desenvolvimento vegetativo, a cana-de-açúcar exige grandes quantidades de potássio para inúmeros processos bioquímicos endergônicos como a própria assimilação de CO_2 , síntese de glicose, sacarose, proteínas, enzimas e outras biomoléculas de alto peso molecular, necessárias ao crescimento e desenvolvimento da planta.

Assim, a elevada produção de açúcares redutores nas folhas é atribuída obviamente à maior atividade fotossintética. A sua redução com o tempo e o consequente aumento de sacarose na região colmo/folha e colmo/baínha é devido provavelmente ao transporte desses assimilados da "fonte", que são as folhas, para o "reservatório", que são todas as partes da planta que se utilizam dos fotossintetizados para o crescimento, metabolismo ou armazenamento (ALEXANDER, 1973; BERINGER, 1982).

HARTT *et alii* (1963) em estudos sobre a translocação de sacarose ^{14}C em cana-de-açúcar demonstrou que esse açúcar, depois de ser formado nas folhas, passa rapidamente para o sistema condutor (nervuras secundárias) e daí para a nervura central seguindo depois para baínha em velocidade de 2,5 cm/minuto. Alcançado o colmo, sofre redistribuição interna, uma fração migrando para a parte superior e outra para as regiões inferiores. Nas raízes, caule e folhas é convertido em glicose e frutose que são utilizadas para o crescimento de paredes ce-

lulares e protoplasma.

Segundo *MENGEL (1982)* a nutrição potássica favorece o fornecimento de assimilados para o reservatório através da estimulação da fotossíntese e transporte do floema. Verifica-se pelos dados das Tabelas 4, 5 e 6 que o conteúdo de açúcares redutores totais, foi geralmente maior no segmento inferior (que corresponde aos tecidos da bainha/colmo) do que no segmento médio e superior.

Os estudos de *MENGEL e KIRBY (1978)* com $^{14}\text{CO}_2$ mostraram que em plantas de cana-de-açúcar bem supridas de K^+ ocorrem um acúmulo de açúcar na porção do colmo abaixo do ponto de inserção da folha que recebeu $^{14}\text{CO}_2$, sendo que os menores teores de açúcar foram constatados em pontos do caule, acima daquela folha. Parece que a presença do K^+ promoveu a migração de compostos radioativos em intensidades muitas vezes superiores às encontradas quando o íon estava deficiente. De acordo com autores citados por *MALAVOLTA e CROCOMO (1982)*, o efeito do K^+ na migração de fotossintetados parece ser direta e muito provavelmente relacionado com o processo de fotofosforilação, pois quando o nível de K^+ é alto, pode ocorrer estímulo na produção de ATP, o qual por sua vez é necessário para a migração de fotossintetados nos tubos condutores.

Em termos de deficiência de potássio (Nível K_1), observa-se que a redução de sua concentração de 6,0 para 0,1 mM resultou em grande aumento de açúcares redutores totais (ART), açúcares redutores (AR) e sacarose, cujos valores foram significativamente mais altos do que os constatados em plantas normais (Nível K_2) e supridas com excesso de K^+ (Nível K_3).

Pela análise da Figura 5 observam-se as variações nos teores de açúcares redutores durante o período em que durou o experimento. Verifica-se que no segmento inferior (baí

Figura 5 - Variações nos teores de açúcares redutores nos segmentos de parte aérea de plantas de cana-de-açúcar supridas com diferentes níveis de potássio.

nha/colmo) o acúmulo de açúcares redutores foi proporcional ao tempo, o que pode ser explicado possivelmente pela presença de altos níveis de invertase ácida presentes nos estádios iniciais de desenvolvimento e que foram encontradas na bainha de folhas de cana-de-açúcar por *SAMPIETRO et alii* (1980).

Diferenças notáveis foram constatadas entre os níveis de açúcares redutores (AR) nos segmentos médio e superior nos sucessivos estádios de desenvolvimento: aos 20 dias ocorreu uma acentuada elevação que foi diminuindo gradualmente até os 40 dias, para depois sofrer um novo aumento até os 60 dias.

Esses resultados sugerem que a deficiência de K^+ exerce profunda influência nas transformações de hexoses o que pode estar possivelmente relacionado com as mudanças na velocidade de transporte, utilização ou formação de glucose e frutose e/ou formação de enzimas.

Nas plantas supridas com excesso de K^+ (Tratamento K_3) um fato interessante que chamou a atenção, foi a diminuição gradativa dos açúcares redutores totais no tecido das folhas (Figura 6), sugerindo uma elevada degradação de açúcares provavelmente pela respiração. Esses resultados indicam que a cana-de-açúcar, mais do que a maioria das outras espécies vegetais, tem necessidade de metabolizar glucose durante seus primeiros meses de desenvolvimento. (*ALEXANDER, 1965a*).

GLOVER (1973) estudando a degradação dos açúcares armazenados no colmo pela respiração, chegou à conclusão de que a perda de carboidrato depende da idade da cana e da proporção entre as folhas, podendo variar de 20% em plantas jovens crescendo ativamente. Verifica-se pelos resultados obtidos que o conteúdo de açúcares nos tecidos da bainha/colmo (segmento inferior) foi em todos os casos maior do que o conteúdo nos

Figura 6 - Variações dos teores de Açúcares Redutores Totais (ART) nos segmentos de parte aérea de plantas de cana-de-açúcar supridas com diferentes níveis de K⁺.

tecidos da região colmo/folha e das folhas, independente do nível de K^+ . Esse comportamento pode ser devido ao teor mais elevado de matéria seca do segmento inferior. Aliás, GLOVER (1973) relata que proporcionalmente a matéria seca, as folhas respiram mais rapidamente que o colmo. Entretanto, como a matéria seca do colmo é muito maior, ocorre aí a maior perda de carboidratos.

Acredita-se que as diferenças encontradas entre os tratamentos e os teores de açúcares estejam relacionadas ao desenvolvimento ontogenético da planta. Assim, quando se compararam os resultados obtidos pelas plantas cultivadas em deficiência de K^+ e as supridas com altos níveis, verifica-se que o íon atua de maneira decisiva no metabolismo de açúcares de plantas de cana em desenvolvimento ativo. Por outro lado, as variações nos teores de açúcares nos três níveis de K^+ sugerem que as concentrações mais baixas (K_1) parecem ter influência mais direta sobre o metabolismo de açúcares do que sobre o mecanismo de migração de açúcares em plantas jovens. Esses resultados estão de acordo com ALEXANDER (1964) e Steinberg, citado por PIRSON (1955).

Apesar do grande volume de trabalhos da literatura que descrevem os efeitos benéficos do K^+ em vários processos bioquímicos relacionados ao metabolismo celular de plantas de cana-de-açúcar e apesar de sua importância como um elemento essencial para a obtenção de elevados teores de sacarose (SAMUELS e LANDRAU, 1952; SAMUELS et alii, 1952 e 1956), ainda não estão bem definidas em que fases do metabolismo do açúcares o potássio atua.

Em termos de sacarose, observa-se pela Figura 7 que as plantas cultivadas em condições de deficiência de potássio (Tratamento K_1) apresentaram baixos teores de sacarose no segmento médio (colmo/folha) e segmento superior (folhas).

Figura 7 - Variações nos teores de Sacarose nos segmentos de parte aérea de plantas de cana-de-açúcar supridas com diferentes níveis de potássio.

Nas plantas normais (Tratamento K₂) o teor de sacarose nos três segmentos (inferior, médio e superior) aumentou gradualmente com o tempo, embora nos dois últimos, o acúmulo de sacarose tenha se processado lentamente até aproximadamente 40 dias. Esses dados são concordantes com os resultados de matéria seca, visto que esta é derivada da sacarose conforme os relatos de *GAYLER e GLASZIOU (1972)*.

Nas plantas do tratamento K₃ observa-se que, enquanto nos dois últimos segmentos (médio e inferior) o teor de sacarose diminuía até 40 dias para depois aumentar, no segmento superior, ocorreu exatamente o contrário; o conteúdo de sacarose aumentou ligeiramente até os 40 dias e depois disso diminuiu.

Estas variações nos teores de sacarose no colmo foram observadas também por *SUZUKI (1982)* e embora consideradas normais, podem ser devidas não apenas a metodologia utilizada como afirma o autor, mas à pouca idade ontogenética das plantas do presente estudo.

Há uma divergência de opiniões quanto ao acúmulo de sacarose pela cana-de-açúcar em função da idade. Embora muitos afirmem que a cana-de-açúcar é uma planta que acumula sacarose no colmo maduro (*HATCH et alii, 1963*) outros como *ALEXANDER (1973)* relatam que o acúmulo de sacarose ocorre tanto em tecidos imaturos como em tecidos adultos.

Em tecidos imaturos essa sacarose previamente formada pelas sintetases de sacarose, é rapidamente hidrolisada pela atividade de invertase ácida vacuolar que começa a desaparecer logo que termina a elongação celular. A maturação do colmo envolve uma elevação do nível de 2 hexoses, glicose e frutose (cerca de 0,05% do peso fresco) e um concomitante aumento de aproximadamente 20% do peso fresco em sacarose (*GAYLER e*

GLASZIOU, 1972). Entretanto, como o principal objetivo do presente ensaio foi o de acompanhar o efeito do K^+ sobre a atividade de invertases relacionadas com o metabolismo de açúcares, é importante ressaltar o efeito da deficiência potássica sobre o conteúdo de sacarose e açúcares redutores.

Observa-se pelos dados, que na primeira amostragem (20 dias) quando a deficiência era branda, as plantas de tratamento K_1 apresentavam maiores teores de açúcares do que as plantas do tratamento K_2 , consideradas normais. Apesar do grande acúmulo de sacarose apresentado pelas plantas deficientes, observa-se também, que nas plantas do tratamento K_2 e K_3 o conteúdo de sacarose foi sempre menor do que o de açúcar redutor. Esses resultados sugerem que altas concentrações de invertase estão presentes em tecidos jovens de cana-de-açúcar (SAMPETRO *et alii*, 1980) e que na deficiência de potássio essa concentração é maior, o que concorda com HARTT (1934).

Em relação ao mais baixo teor de sacarose associado com o elevado teor de açúcares redutores em plantas deficientes, resultados semelhantes foram obtidos por ALEXANDER (1964), SILVEIRA (1980) e SUZUKI (1982).

ALEXANDER (1964) mostrou que os açúcares redutores totais foram se acumulando tanto no tecido da folha como no da bainha em resposta ao decréscimo de K^+ e que a glicose foi o principal açúcar responsável por esse aumento. Houve também concordância quanto a acumulação de açúcar no final do ensaio.

Apesar das semelhanças, verificam-se algumas divergências nos resultados, o que se deve provavelmente ao fato de que neste trabalho as plantas foram mantidas nos tratamentos apenas 60 dias enquanto que no trabalho daqueles autores as plantas permaneceram de 3 a 7 meses. As condições de clima, cultivares diferentes e variabilidade genética são fatores que devem ser considerados.

4.3. Interação "Potássio/Compostos Nitrogenados/Atividade de Invertases"

As Tabelas 7, 8 e 9 mostram o efeito dos níveis de K^+ na quantidade de compostos nitrogenados dos segmentos da parte aérea das plantas em função da idade (dias após o transplante para as soluções nutritivas).

Através da Tabela 7 observa-se que o nível mais baixo de K^+ (K_1) na solução nutritiva mostrou uma tendência de aumentar os teores de proteína e $N-\alpha NH_2$ solúvel e diminuir o total no segmento superior das plantas deficientes quando comparadas às normais (do nível K_2).

Os dados da Tabela 8 evidenciam que aos 40 dias houve uma tendência contrária: o teor das três frações nitrogenadas (N -total, $N-\alpha NH_2$ e proteína) foi menor no segmento superior das plantas K_1 do que nos das plantas K_2 . Já no final do experimento (Tabela 9) as plantas deficientes em comparação com as plantas normais mostraram uma tendência para aumentar os teores de $N-\alpha NH_2$ e N -total e diminuir o teor de proteína principalmente no segmento superior que se diferenciou dos demais.

Confrontando os dados encontrados no presente ensaio com aqueles relatados por *SUZUKI (1982)*, *ALEXANDER (1964)* e *HARTT (1934)* que utilizaram cana de idade diferente e separação das diferentes partes da planta, observa-se que a concordância dos dados é parcial. Pode-se notar uma grande variação de resultados o que pode ter sido provocado pela análise conjunta de folha mais colmo (segmento médio) e de colmo mais bainha (segmento inferior).

Essas variações contrariam os resultados relatados por *HARTT (1934)*, *HUMBERT (1963)* e *ALEXANDER, 1964*),

que observaram uma tendência geral de aumentar os teores de proteínas, N-total e N- α NH₂ solúvel nas folhas de cana-de-açúcar com deficiência de potássio.

No segmento inferior observa-se que as variações ocorreram principalmente com os teores de proteínas e N-total, que na deficiência apresentaram durante o ensaio uma tendência de diminuir muito mais do que as plantas normais.

Esses resultados podem estar relacionados ao maior acúmulo de carboidratos no segmento inferior das plantas deficientes o que leva à sugestão de que a causa principal desse acúmulo pode ter sido uma alteração na síntese de proteínas o que pode estar correlacionado à atividade de invertase. Observou-se que no presente ensaio o segmento inferior das plantas do tratamento K₁, apresentou níveis mais altos de atividade de invertase ácida do que as plantas do tratamento K₂, o que provavelmente provocou o acúmulo de açúcares totais nessa região da parte aérea.

Evidencia-se também pelos resultados obtidos, que nas condições do ensaio, as alterações na síntese de proteínas são indicadas indiretamente pela redução do crescimento das plantas deficientes e diretamente pelas determinações do nitrogênio o que concorda com as observações relatadas por *HARTT* (1934).

Em relação as plantas dos tratamentos K₂ e K₃ observa-se pelos dados das Tabelas 7, 8 e 9 que o segmento mêdio e superior apresentaram uma tendência de aumentar o teor de proteína com o tempo. Esse aumento pode ser atribuído a uma rápida polimerização de aminoácidos, o que vem explicar o efeito do K⁺ como fator essencial no processo de formação dessa macromolécula para suprir as exigências da fase de crescimento.

Quanto aos teores de N-total e N- α NH₂ dos segmentos médio e superior dessas plantas (K₂ e K₃) observa-se que a tendência geral foi de diminuir com o tempo embora os teores de N- α NH₂ tenham sofrido uma elevação aos 40 dias. O decréscimo no conteúdo dessas 2 frações pode ter sido provocado por uma maior utilização de aminoácidos evitando com isso que eles sejam acumulados.

Ressalta-se ainda os diferentes resultados obtidos para o teor de proteínas no segmento inferior; enquanto que o teor de proteínas das plantas K₂ aumentou acentuadamente o das plantas K₃ diminuiu e o das plantas K₁ manteve-se praticamente constante durante todo o período considerado.

Essas diferenças encontradas podem ser atribuídas às frequentes mudanças destas frações durante o desenvolvimento. A idade fisiológica da planta pode ser a mais satisfatória base de comparação, entretanto é perigoso fazer tal afirmativa, uma vez que às plantas foram fornecidas, diferentes quantidades de potássio. Contudo, a despeito destas limitações, os resultados do presente ensaio mostram que a nutrição potássica afetou consideravelmente a distribuição das frações nitrogenadas individuais.

Analisando-se a Figura 8 observa-se que o teor de N-total se eleva no segmento inferior (região bainha/colmo) em todos os tratamentos, sendo que o aumento foi gradual no nível intermediário de K⁺ (Nível K₂). Nos níveis K₁ e K₃ a percentagem de distribuição do N se tornou praticamente constante a partir dos 40 dias.

Nos segmentos médio e superior, ao contrário do que ocorreu no segmento inferior, observou-se que o teor de N-total mostrou uma tendência de diminuir ao longo do experimento sobretudo nos níveis mais elevados de potássio.

Figura 8 - Variações nos teores de N-total nos segmentos de parte aérea de plantas de cana-de-açúcar, sob efeito de diferentes níveis de potássio.

No nível mais baixo, essa diminuição se processou até os 40 dias, sofrendo a seguir uma acentuada elevação.

Os dados revelam que o comportamento do K^+ em relação aos teores de N-total foi significativamente diferente dentro de cada segmento, indicando uma interação significativa entre os níveis de K e os segmentos de parte aérea. Observa-se que os maiores valores de N-total foram constatados no segmento superior seguindo em ordem decrescente o segmento médio e inferior. É também importante observar que a ordem: segmento superior > segmento médio > segmento inferior foi constatada apenas aos 20 e 40 dias. Aos 60 dias, menores teores de N-total foram constatados no segmento médio, não ocorrendo em diferenças entre os teores de nitrogênio do segmento superior e inferior.

O fato de que o teor de N-total diminui no colmo e nas folhas a medida que se elevam os teores de K^+ (nível K_2 e K_3) pode estar relacionado com a utilização de aminoácidos na síntese de proteína, diminuindo com isso o conteúdo de aminoácidos livres.

Muitos autores como KARMANENZO (1968), BARKER e BRASFIELD (1963), HSIAO et alii (1970) tem estudado o efeito da nutrição potássica sobre a percentagem de distribuição do N em plantas incluindo o N-total livre ou ligado aos aminoácidos, nitrogênio não protéico, N-amoniacal, N-cítrico, amidas, aminas, etc.

Quanto ao efeito da deficiência de potássio sobre a fração nitrogenada, a principal observação foi a acumulação de N-total nas folhas (segmento superior) e na região colmo/folha (segmento médio) sugerindo uma possível acumulação de amônia e amida nessas regiões da planta.

Os resultados obtidos no presente estudo são con

cordantes com a literatura, no sentido de que as plantas supridas com baixo nível de potássio apresentarem maior teor de N-total nas folhas e no colmo. Todavia, ao comparar os resultados dos níveis K_2 e K_3 observa-se uma certa semelhança entre os dados, indicando que altos níveis de K^+ capacitam as plantas a utilizarem grandes proporções de N sob forma de amônia. Isto é evidente pelos decréscimos no conteúdo de N- α -NH₂ solúvel (aminoácidos livres, amidas, peptídeos, etc.), quando o suprimento de K^+ na solução nutritiva está em condições adequadas, o que pode ser observado pela análise da Figura 9. Verifica-se que o efeito geral do K^+ , exceto quando fornecido em concentrações excessivas (K_3), foi o de aumentar os teores de N- α -NH₂ solúvel, resultando com isso um acúmulo de uma ampla série de metabólitos (aminoácidos livres e ligados, amidas, amins, uréia, ureídos, purinas, etc...) principalmente nos tecidos da bainha/colmo (segmento inferior) embora tenha ocorrido um ligeiro aumento nas folhas (segmento superior) das plantas de cana-de-açúcar deficiente.

No segmento inferior entretanto, ocorreu um fato interessante: foram constatados elevados valores de N-solúvel não apenas nas plantas deficientes como também quando as concentrações de K^+ estavam em nível intermediário (K_2) ou muito alta (K_3). No nível mais elevado ocorreu inicialmente uma diminuição brusca que foi compensada por uma elevação acentuada a partir dos 40 dias. O mesmo fato não se verificou no segmento médio e superior nos quais as variações dos efeitos das doses crescentes de K^+ não foram estatisticamente diferentes. A interpretação para as acentuadas variações observadas no segmento inferior é que provavelmente altos níveis de K^+ aumentam a utilização de aminoácidos na síntese de proteínas, diminuindo como consequência o conteúdo total de aminoácidos livres. A utilização de aminoácidos para a síntese de proteínas alcança maiores proporções no processo de transaminação onde se formam maio

Figura 9 - Influência do potássio sobre o conteúdo de $\text{N-}\alpha\text{NH}_2$ solúvel nos segmentos de parte aérea de plantas de cana-de-açúcar cultivadas em solução nutritiva.

res quantidades de ácido aspártico e ácido glutâmico (BARKER e BRADFIELD, 1963) que são "*aminoácidos de origem*", sintetizados a partir de carboidratos fornecidos através do processo de respiração (CROCOMO, 1979).

Apesar da grande maioria dos trabalhos de literatura afirmarem que acumulação de carboidratos e de compostos nitrogenados solúveis estão associados a uma diminuição da síntese proteica em condições de deficiência de K^+ ; este assunto é ainda motivo de muitas especulações.

Observa-se pela Figura 10 que o teor de proteína nas folhas das plantas do tratamento K_1 foi menor do que nas plantas do tratamento K_2 , consideradas normais. Nos tecidos de colmo/folha excetuando a época da última amostragem (60 dias esses teores tenderam a aumentar. Esses resultados podem ser atribuídos aos desarranjos metabólicos na deficiência de K^+ que dependem em última análise do estágio de desenvolvimento da planta bem como de fatores externos. Depreende-se portanto dos resultados, que a nutrição potássica desempenha sem dúvida alguma, um papel chave nas transformações do nitrogênio em plantas de cana-de-açúcar. Entretanto, grande parte da literatura que examinam os efeitos do potássio sobre o metabolismo do nitrogênio nem sempre trata dos efeitos das doses crescentes da quele elemento sobre a distribuição das várias frações nitrogenadas nas diferentes partes das plantas.

4.4. Interação Potássio/Atividade de Invertases

A atividade de invertase ácida (pH 5,5) e invertase neutra (pH 7,1) foi detectada em todos os segmentos de parte aérea de cana-de-açúcar (Tabela 10) durante todo o período considerado. Em todos os casos, entretanto, constatou-se que

Figura 10 - Variações nos teores de proteínas dos segmentos de parte aérea de plantas de cana-de-açúcar supridas com diferentes níveis de potássio.

a atividade de invertase ácida foi sempre maior do que a atividade de invertase neutra principalmente nas folhas e também na região colmo/folha. Este resultado está de acordo com o de *HATCH e GLASZIOU (1963)* que observaram a existência de uma estreita correlação entre atividade de invertase ácida e taxa de crescimento de tecidos imaturos, bem como entre atividade de invertase neutra e conteúdo de açúcares em tecidos armazenados (colmo) de cana-de-açúcar adulta.

As pronunciadas diferenças nas atividades de invertases dentro de cada segmento, podem estar associadas com a localização da enzima na célula. *SAMPIETRO et alii (1980)* além de demonstrarem esse fato, relatam que diferentes invertases ocorrem em diferentes tecidos de cana-de-açúcar. Além disso, diferentes estádios dentro de um mesmo tecido são acompanhados por diferentes invertases, e portanto diferentes tecidos poderiam conter diferentes invertases. Essa possibilidade foi confirmada por *FLEISCHMACHER et alii (1980)* comparando invertases de parede celular dos ápices de cana-de-açúcar e dos calos obtidos destes ápices.

Apesar das flutuações nos níveis de atividade com o tempo, os resultados levam à sugestão de que existe uma correlação positiva entre a taxa de crescimento e atividade da enzima. A invertase ácida correlaciona-se com o processo de inversão de sacarose e produção de hexoses para suprir as exigências de energia e carbono que mantêm as reações biossintéticas nos estádios iniciais do desenvolvimento. A invertase neutra, por sua vez, parece fazer parte do sistema que controla o fluxo de açúcares em tecidos armazenadores maduros (*GAYLER e GLASZIOU, 1972*). Segundo *HATCH e GLASZIOU (1963)* e *SLACK (1965)*, durante a fase jovem (de divisão e alongamento celular), as células dos internódios de cana-de-açúcar, contêm grandes quantidades de invertase ácida solúvel, que tendem a diminuir logo de

pois que termina o alongamento celular. As células mais maduras contêm uma invertase ácida insolúvel, ligada a parede celular e uma invertase neutra (*HATCH e GLASZIOU, 1963 e HAWKER e HATCH, 1965*). A primeira parece exercer maior controle sobre o conteúdo de matéria seca acompanhando a extensão do crescimento celular, enquanto que a invertase ácida solúvel ou componente vacuolar, parece estar relacionada com a regulação do turgor de pressão e reservatório interno de açúcares (*GAYLER e GLASZIOU, 1972*).

Com relação aos tratamentos K_1 , K_2 e K_3 verifica-se pelos dados da Tabela 10 que não se observou diferenças significativas entre os níveis de K^+ e a atividade de invertases. Apesar disso o tratamento K_1 se diferenciou dos demais por mostrar uma tendência de aumentar os valores de atividade de invertase ácida, principalmente nos primeiros 20 dias. Esse resultado contraria aqueles obtidos por *HARTT (1934)* que observou que tanto no colmo como nas folhas das plantas a atividade dessa enzima foi menor do que nas plantas normais.

O aumento de atividade enzimática observado nas condições do ensaio implica obviamente numa maior inversão de sacarose o que restaria pouca quantidade para ser acumulada. Por outro lado, a deficiência de potássio poderia prejudicar não somente o processo de síntese como também de translocação de sacarose e/ou a própria síntese da invertase.

As Figuras 11 e 12 mostram as variações para os níveis de invertase ácida e invertase neutra dentro de cada segmento em função dos níveis de K^+ . Verifica-se pela análise dos dados que em todos os tratamentos tanto a invertase ácida como a invertase neutra apresentaram uma tendência para diminuir, após os 40 dias.

Com relação à invertase ácida, essa diminuição

Figura 11- Efeito do K sobre a atividade de invertase ácida (pH 5,5) nos segmentos de parte aérea de plantas de cana-de-açúcar.

Figura 12- Efeito do Potássio sobre atividade de Invertase Neutra (pH7,1) nos segmentos de parte aérea de plantas de cana-de-açúcar.

pode estar associada com a pouca idade da cana-de-açúcar utilizada no ensaio ou com o acúmulo de sacarose no colmo o que provocaria sua inativação conforme os relatos de *SAMPIETRO et alii* (1980).

Os dados obtidos em relação à diminuição da invertase neutra não concordam com aqueles obtidos por *GAYLER e GLASZIOU* (1972) (1963) que mostraram que a atividade dessa enzima começa a aparecer à medida que a invertase ácida tende a desaparecer. Resultados semelhantes foram encontrados por *HATCH e GLASZIOU* (1963) em experimentos com cana-de-açúcar.

Embora não se tenha dados suficientes para discutir a interrelação observada entre a atividade dessas enzimas e o efeito do K^+ , acredita-se que este íon não seja ativador específico de invertase o que contraria os resultados obtidos por *HARTT* (1934). Deve-se considerar entretanto que a autora utilizou outra metodologia: cada parte da planta isoladamente, cana-de-açúcar com 7 meses de idade além de outras concentrações de K^+ na solução nutritiva.

Recentemente *SUZUKI* (1982) estudando a interação entre potássio/atividade de invertase de cana-de-açúcar com 180 dias de idade, encontrou nas bañhas foliares, uma tendência oposta, como seja, para o aumento de invertase alcalina e estabilização em valores baixos para invertase ácida.

Apesar da grande quantidade de trabalhos publicados sobre atividade de invertases em cana-de-açúcar sobretudo pelas equipes de *HATCH et alii* (1963), *SAMPIETRO et alii* (1980) e mais *ALEXANDER* (1964, 1965, 1973), *HUMBERT* (1968a) e recentemente *SUZUKI* (1982) poucos dentre eles tem correlacionado as atividades destas enzimas com suprimento de potássio. Entre os poucos sobre esse assunto, está o *MATSUSHITA e URITANI*

(1966) que demonstraram que o K^+ e o Na^+ são ativadores específicos de invertases em plantas de batata doce. JONES(1966) por sua vez apresentou evidências de que a deficiência de K^+ tem um efeito depressor sobre as atividades de invertases, produção de ácido glicérico e sobre a síntese de Uridina-difosfoglicose (UDPG) em plantas de tomate.

CROCOMO (Comunicação pessoal) iniciou a partir dos trabalhos de SILVEIRA (1980) uma série de estudos com cana-de-açúcar em diferentes estádios de desenvolvimento, com o objetivo de compreender que fases metabolismo da planta estão relacionadas com as maiores exigências de K^+ e o envolvimento desse íon com a síntese e translocação de sacarose e enzimas relacionadas. Apesar das evidências apresentadas no presente ensaio de que há uma estreita correlação entre K^+ , metabolismo de açúcares e atividade de invertase, observa-se contudo que a natureza correlacional da evidência, parece apresentar a desvantagem de não permitir estabelecer uma relação bem definida de causa-e-efeito. Desse modo, infere-se dos resultados obtidos, a necessidade de se realizar mais ensaios, com o uso de inibidores de invertases seletivos e específicos, que possam dar informações mais sólidas sobre a função destas enzimas. Os resultados obtidos no presente trabalho estão indicando que a quantidade e espécie de açúcar armazenado estão mais estreitamente correlacionados com o nível de invertase ácida do que com o de invertase neutra.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho, considerando-se as condições descritas para o ensaio, permitem apresentar as conclusões e observações que se seguem:

Os três níveis de potássio utilizados no experimento (0,1; 6,0 e 12,0 mM) influenciam diferentemente o estágio inicial do desenvolvimento da planta de cana-de-açúcar sendo que, quanto maior a concentração de K^+ , maior é a taxa de crescimento, o que foi comprovado pelos dados de matéria seca.

Com a redução da concentração de K^+ de 6,0 para 0,1 mM na solução nutritiva, obtêm-se os mais altos teores de sacarose, açúcares redutores (AR) e açúcares redutores totais (ART). O conteúdo de açúcares é geralmente maior nos tecidos da bainha/colmo diminuindo a medida que se aproxima dos tecidos da folha. Há uma correlação inversa entre o teor de sacarose e os níveis de açúcares redutores, indicando pelo teor de AR produzido, uma eficiente inversão de sacarose pela enzima invertase principalmente em condições de deficiência de potássio.

Não foram observados efeitos significativos, di-

retos do K^+ na atividade de invertase ácida e invertase neutra, apesar de que, em baixas concentrações desse elemento, a atividade dessas enzimas, foi de uma maneira geral, bem mais elevada. A idade fisiológica das plantas, parece exercer uma influência mais decisiva do que os níveis de K^+ sobre a atividade das enzimas. Embora de início, ambas tenham apresentado níveis elevados, a invertase ácida mostrou depois de um certo tempo, tendência para aumentar, e depois diminuir. Em todos os casos, sua atividade foi sempre maior do que a atividade da invertase neutra.

O elevado nível de atividade de invertase ácida na folha ao lado de baixos teores de sacarose evidencia a existência de uma estreita correlação entre a inversão da sacarose e a atividade desta enzima. No tecido da bainha/colmo, onde a atividade da enzima foi muito baixa, a sacarose se acumulou.

A presença do K^+ em níveis inadequados na solução nutritiva (0,1 mM) provocou aumento no conteúdo de $N-\alpha-NH_2$ e diminuição nos níveis de proteínas e N-total.

6. LITERATURA CITADA

- ALEXANDER, A.G., 1964. Sucrose-enzyme relationships in immature sugarcane as affected by varying levels of nitrate and potassium supplied in sand culture. Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico. Rio Piedras, 48(3):165-231.
- ALEXANDER, A.G., 1965a. Physiological studies of enzymes catalyzing the synthesis and hydrolysis of sucrose, starch and phosphorylated hexose in sugar cane. Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico. Rio Piedras, 49:60-75.
- ALEXANDER, A.G., 1965b. Hydrolytic proteins of sugarcane: The acid invertases. Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico. Rio Piedras, 49:287-307.
- ALEXANDER, A.G., 1967. Purification and electrophoretic behavior of sugarcane invertases. Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico. Rio Piedras, 51(1):39-45.
- ALEXANDER, A.G., 1969. Comparative studies of yeast and sugarcane invertase. Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico. Rio Pedras, 53:41-56.

- ALEXANDER, A.G., 1973. Sugarcane physiology. Amsterdam, Elsevier. 752p.
- ALEXANDER, A.G. e G. SAMUELS, 1968. "Controlled-temperature studies of growth enzymology and sucrose production by two sugarcane varieties in Puerto Rico. Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico. Rio Piedras, 52(3):204-217.
- AMORIM, H.V. e E.A. ZAGO, 1978. Análises para o controle da fermentação. Apostila do Departamento de Química - ESALQ/USP. Piracicaba. 26p.
- BARKER, A.V. e R. BRADFELD, 1963. Effect of potassium and nitrogen on the free amino acid content of corn plant. Agronomy Journal, Madison, Wisconsin, 55:465-470.
- BASSO, L.C., 1974. Formação de di- e poliaminas em plantas deficientes em potássio e magnésio. Piracicaba, SP. ESALQ/USP. (Dissertação de Mestrado).
- BAVER, L.D., 1960. Plant and soil composition relationships as applied to cane fertilization. Hawaiian Planters' Record. Edith. L. Haselwood, Associate Honolulu, 56:1-153.
- BERINGER, H., 1982. O potássio na produção das culturas. In: Potássio na Agricultura Brasileira. Instituto da Potassa e Fosfato (U.S.A.). Instituto Internacional da Potassa (Suíça). Londrina. p.163-175.
- BIELISKI, R.L., 1960. The physiology of sugar cane III. Characteristic of sugar uptake in slices of mature and imature storage tissue. Australian Journal Biological Sciences. Melbourne, 13(3):203-220.

- BLANCHET, R.; R. STUDER e C. CHAVMONT, 1962. Some aspects of interactions in the water supply of plants. Annales Agronomiques. Paris, 13:93-110.
- BOWEN, J.E., 1972. Sugar transport in immature internodal tissue of sugarcane. I. Mechanism and kinetics of accumulation. Plant Physiology. Washington, 49:82-86.
- BOWEN, J.E., 1973. Effect of micronutrient deficiencies upon macronutrient accumulation in sugar-cane. Tropical Agriculture. Trinidad, West Indien, 50:129-137.
- BOWEN, J.E., 1975. Micronutrient composition of sugarcane sheaths as affected by age. Tropical Agriculture. Trinidad, West Indien, 52:131-137.
- BOWEN, J.E., 1981. Micro-element nutrition of sugarcane. I- Effect of micro-elements on growth and yield. Tropical Agriculture. Trinidad, West Indien, 48(1):13-21.
- BURR, G.O., C.E. HARTT, H.W. BRODIE, T. TANIMOTO, H.P. KORTSCHAK, D. TAKAHASHI, F.M. ASHTON e R.E. COLEMAN, 1957. Sugarcane Plant. Annual Review of Plant Physiology. Standford, California, 8:275-308.
- CROCOMO, O.J., 1979. Assimilação do nitrogênio pela plantas. In: Fisiologia Vegetal I. FERRI, M.G. E.P.U. - EDUSP. São Paulo. p.179-207.
- CROCOMO, O.J. e L.C. BASSO, 1974. Accumulation of putrescine and related aminoacids in potassium deficient *Sesamum*. Phytochemistry. New York, 13:2659-2665.

- CROCOMO, O.J., J.A.G. SILVEIRA e N. OCHOA-ALEJO, 1981. Formas nitrogenadas e metabolismo de açúcares e crescimento em cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) cv. NA56-79. In: Congresso Nacional da Sociedade de Técnicos Açucareiros do Brasil. 2º Simpósio Latinoamericano sobre modalidades de financiamento à produção de energia renovável. Anais. Rio de Janeiro (STAB), 2:282-304.
- CROCOMO, O.J., W.R. SHARP e M.T.V. CARVALHO, 1979. Controle da morfogênese e desenvolvimento de plantas em cultura de tecidos de cana-de-açúcar. Resultados experimentais. Anais. 1º Congresso Nacional da Sociedade dos Técnicos Açucareiros do Brasil (STAB). Maceió, 1:241-243.
- DAVIES, D.R., 1974. Some aspects of sucrose metabolism. In: Plant Carbohydrate Biochemistry (PRIDAN, J.B., ed.). Academic Press London e New York, 10(5):61-81.
- DILLEWIJN, C. van, 1952. Botany of sugarcane. Waltham, Mass. U.S.A. The Chronica Botanica. 371p.
- EPSTEIN, E., 1972. Mineral nutrition of plants. New York, John Wiley. 341p.
- ETCHEBERRIGARRY, J.L., M.A. VATTUONE e A.R. SAMPIETRO, 1981. β -galactosidase from sugar-cane. Phytochemistry, New York, 20:49-51.
- EVANS, H.J. e G. SORGER, 1966. Role of mineral elements with emphasis on the univalent cations. Annual Review of Plant Physiology. Standford, California, 17:47-76.

EVANS, J.H. e R.A. WILDES, 1971. Potassium and its role in enzyme activation. In: 8th Colloquium International Potash Institute, Uppsolo/Sweden. Ed. International Potash Institute Berne Swetzarland. 244 pages.

FLEISCHMACHER, O.L., F.E. PRADO, A.R. SAMPIETRO, 1980. Cell wall invertases from apex and callus tissues of sugarcane. Plant and Cell Physiology Kyoto. Japan, 21:1273-1281.

FRYDMAN, R.B. e W.Z. HASSID, 1963. Biosynthesis of sucrose with sugarcane leaf preparations. Nature. London, 199:382-383.

GAYLER, K.R. e K.T. GLASZIOU, 1972. Physiological functions of acid and newtral invertases in growth and sugar storage in sugar-cane. Physiologia Plantarum. Kobenhavn, Lund, 27:25-31.

GLASZIOU, K.T., 1961. Accumulation and transformation of sugars in stalks of sugar-cane. Origin of glucose and fructose in the inner space. Plant Physiology. Washington, 36:175-179.

GLASZIOU, K.T., 1962. Accumulation and transformation of sugars in sugar cane stalks: Mechanism of inversion of sucrose in the inner space. Nature. London, 193:1100.

GLASZIOU, K.T. e K.R. GAYLER, 1972. The role of cell walls in sucrose transport in sugarcane. Plant Physiology. Washington, 49:912-913.

- GLOVER, J., 1973. The dark respiration of sugar-cane and the loss of photosynthate during the growth of a crop. Annals of Botany. Oxford, 37:845-952.
- GOODWIN, T.W. e E.I. MERCER, 1972. Introduction to plant biochemistry. Pergamon Press, Oxford, New York. 359pp.
- HAAG, H.P., 1965. Estudos de nutrição mineral da cana-de-açúcar variedade CB41-76, cultivada em solução nutritiva. ESALQ/USP. Livre Docência. Piracicaba, São Paulo. 141 p.
- HAEDER, H.E. e K. MENGEL, 1974. Effect of nutrition on CO₂ assimilation and grain filling of wheat during the reproductive stage. In: International Colloquium on Plant Analysis and Fertilizers Problems. Proceedings of the 7th Colloquium. Hannover. p.135-145.
- HARTT, C.E., 1934. Some effects of potassium upon the amounts of protein and amino forms of nitrogen, sugars and enzyme activity of sugar-cane. Plant Physiology. Washington, 9:453-490.
- HARTT, C.E., 1969. Effect of potassium deficiency upon translocation of ¹⁴C in attached blades and entire plants of sugarcane. Plant Physiology. Washington, 44:1451-1469.
- HARTT, C.E., 1970. Effect of potassium deficiency upon translocation of ¹⁴C in detached blades of sugarcane. Plant Physiology. Washington, 45:183-187.

HARTT, E.C. e G.O. BURR, 1967. Factors affecting photosynthesis in sugarcane. In: Congress International Society Sugarcane Technology, 1th (Puerto Rico, 1965). Proceedings Amsterdam Elsevier. 590-608pp.

HARTT, C.E., H.P. KORTSCHACK, A.J. FORBES e G.O. BURR, 1963. Translocation of ^{14}C in sugarcane. Plant Physiology. Washington, 33:305-318.

HATCH, M.D., 1964. Sugar accumulation by sugarcane storage tissue: the role of sucrose phosphate. Biochemical Journal. Cambridge, 93:521-526.

HATCH, M.D. e K.T. GLASZIOU, 1963. Sugar accumulation cycle in Sugarcane. II. Relationship of Invertase Activity to Sugar Content and Growth Rate in Storage Tissue of Plants Grown in Controlled Environments. Plant Physiology. Washington, 38:344-348.

HATCH, M.D., J.A. SACHER e K.T. GLASZIOU, 1963. Sugar accumulation cycle in sugarcane. I- Studies on enzymes of the cycle. Plant Physiology. Washington, 38:338-343.

HATCH, M.D. e C.R. SLACK, 1970. Photosynthetic CO_2 -fixation pathways. Annals Review of Plant Physiology. Stanford California, 21:141-162.

HAWKER, J.S. e M.D. HATCH, 1965. Mechanism of sugar storage by mature stem tissue of sugarcane. Physiologia Plantarum. Kobenhavn, Lund, 18:444-453.

HELLEBUST, J.A. e D.F. FORWARD, 1962. The invertase of the corn radicle and its activity in successive stages of growth. Canadian Journal of Botany. Ottawa-Canadá, 40:113-126.

HOAGLAND, D.R. e D.I. ARNON, 1950. The water culture method for growing plants without soil. California Agriculture. Berkeley Circular 347.

HSIAO, T.C., R.H. HAGEMAN e E.H. TYNER, 1970. Effects of potassium nutrition on protein and total free amino acids in *Zea mays*. Crop Science. Madison, Wisconsin, 10:78-82.

HUMBERT, R.H., 1963. The growing of sugar-cane. Elsevier Publishing Company Amsterdan. 779pp.

HUMBERT, R.H., 1968. Potassium builds sugarcane quality. Better crops with plant food. Washington, 1:28-29.

HUMPHREYS, T. e E. ECHEVERRIA, 1980. Invertase and maltase in the free space of the maize scutellum. Phytochemistry. New York, 19:189-193.

JONES, L.H., 1966. Carbon-14 studies of intermediary metabolism in potassium-deficient tomato plants. Canadian Journal of Botany. Ottawa, Canadá, 44:297-307.

JONES, R.A. e P.B. KAUFMAN, 1975. Multiples forms of invertase in developing oat internodes. Plant Physiology. Washington, 55:114-119.

JØRGENSEN, S.S., 1977. Guia Analítico. Metodologia utilizada para análises químicas de rotina. Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA. Piracicaba, São Paulo. 23p.

KABAT, A.E. e M.M. MAYER, 1967. Ninhydrin method for primary aminoacids. In: Experimental Imunochemistry, 2^a Edition. Springfield, Charles C. Thomas, U.S.A. p.561-563.

KARMANENKO, N.M., 1968. Effect of the main nutritional elements on the content and free amino acids, and the amino acids composition of protein, in the cell organoids of barley leaves. Soviet Plant Physiology, New York, 15:662-666.

KOCH, K. e K. MENGEL, 1972. Effect of a varied potassium nutrition on the uptake and incorporation of labelled nitrate by young Tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L.). Journal of the Science of Food and Agriculture. London, England, 23:1107-1112.

KOSHLAND, D.E. Jr. e S.S. STEIN, 1954. Correlation of bond breaking with enzyme specificity cleavage point of invertase. The Journal of Biological Chemistry. Baltimore, 208:139-148.

LAWTON, K. e R.L. COOK, 1954. Potassium in Plant nutrition. In: Advances in Agronomy Journal (A.G. NORMAN, ed.). New York, 6:253-303.

LOWRY, O.H., N.J. ROSEBROUGH, A. LEWIS FARR e R.J. RANDALL, 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. Journal Biological Chemistry. Baltimore, 193:265-275.

LUGO-LÓPEZ, M.A., 1954. The affect of soil conditions on the sucrose content of sugar-cane. Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico. Río Piedras, 38(3):132-146.

LUGO-LÓPEZ, M.A. e B.G. CAPÓ, 1954. The effect of weather and climate on the sucrose content of sugarcane. Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico. Río Piedras, 38(4):149-169.

MACLACHLAN, G.A., A.H. DATKO, J. ROLLIT e E. STOKES, 1970. Sugar levels in the pea epicotyl: regulation by invertase and sucrose synthetase. Phytochemistry, New York, 9:1023-1030.

MADAN, V.K., K. SINGH, S. SHIVAPURI, H.P. PANDE e Y.R. SAXENA, 1980. Activity of invertase (s) in sugarcane leaves. International Sugar Journal. Lucknow, India, 82. p.55.

MAGALHÃES, A.C.N., 1979. Análise quantitativa do crescimento. In: Fisiologia Vegetal. I. FERRI, M.G., E.P.U. - EDUSP. São Paulo. p.331-350.

MALAVOLTA, E., 1980. Elementos de nutrição mineral de plantas. Editora Agronômica Ceres Ltda. São Paulo. 251p.

MALAVOLTA, E., 1982. Nutrição mineral e adubação da cana-de-açúcar. Departamento de Serviços Técnicos Agronômicos. Ultrafertil, São Paulo. 80p.

MALAVOLTA, E. e O.J. CROCOMO, 1982. O potássio e a planta. In: Symposium on Potassium in Brazilian Agriculture. Londrina, Paraná, 1:3-70.

MARETZKI, A. e A.G. ALEXANDER, 1967. Gel filtration studies of invertase from sugarcane meristem. Enzimologia. Gravenhage, 33:299-307.

MATSUSHITA, K. e I. URITANI, 1974. Change in invertase activity of sweet potato in response to wounding and purification and properties of its invertases. Plant Physiology, Washington, 54:60-66.

MENGEL, K., 1982. Factores y procesos que influyen en las necesidades de potasio de los cultivos. Revista de la Potasa, Sección, 9. Cultivo de Cereales Berna (Suiza). (16-90).

MENGEL, K. e E.A. KIRKBY, 1978. Principles of Plant Nutrition International Potash Institute Berne, Switzerland. 593p.

MURATA, T. e T. AKAZAWA, 1968. Enzimic mechanism of starch synthesis in sweet potato-roots. I- Requirement of potassium ions for starch synthetase. Archives of Biochemistry and Biophysic. New York, 126:873-879.

NELSON, N., 1944. A photometric adaptation of the Somogyi method for determination of glucose. Journal of Biological Chemistry. Baltimore, New York, 153:375-380.

NOWAKOWSKI, T.Z. e M. BYERS, 1972. Effects of nitrogen and potassium fertilizers on contents of carbohydrates and free amino acids in italian ryegrass II - Changes in the composition of the non protein nitrogen fraction and the distribution of individual amino acids. Journal of the Science of Food and Agriculture. Oxford, London, 23:1313-1333.

- OCHOA-ALEJO, N., 1980. Efeito do nitrogênio nítrico, amoniacal e de uréia sobre o crescimento, carboidratos e compostos nitrogenados em cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. cv. NA56-79) cultivada em solução nutritiva. Mestrado-ESALQ. Piracicaba. 100p.
- OCHOA ALEJO, N. e O.J. CROCOMO, 1981. Biochemical and physiological aspects of sugarcane (*Saccharum* spp.). II. Effect of NO_3^- -N, NH_4^+ and urea-N on carbohydrate level and growth of cv. NA56-79. Energia Nuclear e Agricultura, Piracicaba, 3(2):137-151.
- ORLANDO Fº, J., 1982. Nutrição e adubação potássica da cana-de-açúcar no Brasil. In: Symposium on Potassium in Brazilian Agriculture. Londrina, Paraná, 2:3-29.
- ORLANDO Fº, J., H.P. HAAG, E. ZAMBELLO JR., 1980. Crescimento e absorção de macronutrientes pela cana-de-açúcar, variedade CB41-76 em função da idade em solos do Estado de São Paulo. Boletim Técnico do PLANALSUCAR. Piracicaba, 2(1):1-127.
- OZBUN, J.L., R.J. VOLK e W.A. JACKSON, 1965. Effect of potassium on photosynthesis, respiration and the utilization of photosynthetic reductant by immature bean leaves. Crop Science, Madison, Wisconsin, 5:69-75.
- PIRSON, A., 1955. Functional aspects in mineral nutrition of green plants. Annual Review of Plant Physiology. Standford, California, 6:71-114.

- PRADO, F.E., M.A. VATTUONE e A.R. SAMPIETRO, 1978. Sugarcane glycosidases. A new bound invertase from leaf sheaths. In: International Society of Sugarcane Technologists Proceedings of the XVII Congress São Paulo, SP., Brasil. 16:1683-1691.
- PRADO, F.E., A.R. SAMPIETRO e M.A. VATTUONE, 1979. Ammonium heptamolybdate an inhibitor of plant invertases. Phytochemistry, New York, 18:1799-1802.
- QUIROGA, E.N., T.R. DE MAXUD, M.A. VATTUONE, F.E. PRADO e A.R. SAMPIETRO, 1977. Sugarcane glycosidases. A general view of the glycosidases from stalk. Plant Science Letters, Amsterdam, Netherlands, 8:135-140.
- RICARDO, C.P.P. e D. SOVIA, 1974. Development of tuberous roots and sugar accumulation as related to invertases activity and mineral nutrition. Planta. Berlin, 118:43-55.
- RICHARDS, F.J. e R.G. COLEMAN, 1952. Occurrence of putrescine in potassium deficient barley. Nature, London, 170:460.
- ROBINSON, E. e R. BROWN, 1952. The development of the enzyme complement in growing root cells. Journal of Experimental Botany, Oxford, 3(9):356-374.
- SACHER, J.A., M.D. HATCH e K.T. GLASZIOU, 1963. Sugar accumulation cycle in sugarcane III. Physical and metabolic aspects of cycle in immature storage tissue. Plant Physiology, Washington, 38:348-354.

SAMPIETRO, A.R., M.A. VATTUONE e F.E. PRADO, 1980. A regulatory invertase from sugarcane leaf-sheaths. Phytochemistry, New York, 19:1637-1642.

SAMUELS, G. e P. LANDRAU JR., 1952. The response of sugarcane to fertilizers. Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico. Rio Piedras, 26:203-229.

SAMUELS, G., M. LUGO-LOPEZ e P. LANDRAU JR., 1952. Factors affecting the sucrose content os sugarcane fertilizers. Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico. Rio Piedras, 36:194-202.

SAMUELS, G., P. LANDRAU JR. e B.G. CAPÓ, 1956. The influence of fertility on the varietal response of sugarcane. Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico. Rio Piedras, 40(3):120-123.

SARRUGE, J.R., 1975. Soluções Nutritivas. Suma Phytopatologica. Piracicaba, 1:231-233.

SCOTT-RUSSEL, R. e D.T. CLARKSON, 1971. The uptake and distribution of potassium in crop plant. In: Potassium Biochemistry and Physiology. International Potash Institute Berne. 79-92pp.

SEITZ, K. e A. LANG, 1968. Invertase activity and cell growth in lentil epicotyls. Plant Physiology, Washington, 43:1075-1082.

SHANNON, L.M., 1968. Plant isoenzymes. Annual Review of Plant Physiology. Standford, California, 19:187-210.

- SHEA, P.F., W.H. GOBELNAN e G.G. GERLOFF, 1967. The inheritance of efficiency in potassium utilization in snap beans (*Phaseolus vulgaris*, L.). Proceeding of the American Society for Horticultural Science. Genova, 91:268-293.
- SILVEIRA, J.A.G., 1980. Aspectos bioquímicos e fisiológicos da relação K/N em cana-de-açúcar cv. NA56-79 cultivada em solução nutritiva. Piracicaba, ESALQ/USP. 95p. (Tese de Mestrado).
- SILVEIRA, J.A.G. e O.J. CROCOMO, 1981. Biochemical of sugarcane (*Saccharum* spp.). I. Effects of NO_3^- -Nitrogen concentration on the metabolism of sugars and nitrogen. Energia Nuclear e Agricultura. Piracicaba, 3(1):19-23.
- SLACK, C.R., 1965. The physiology of sugarcane VIII. Diurnal fluctuations in the activity of soluble invertase in elongating internodes. Australian Journal of Biological Sciences. Melbourne, Victoria, 18:781-788.
- SMITH, T.A. e C. SINCLAIR, 1967. The effects of acid feeding on amine formation in barley. Annals of Botany, Oxford, London, 31:103-111.
- SOMOGYI, N.A., 1945. A new reagent for the determination of sugars. Journal of Biological Chemistry. Baltimore, New York, 160:61-68.
- SUM, W.F., P.J. ROGERS, I.D. JENKINS e R.D. GUTHRIE, 1980. Isolation of invertase from banana fruit (*Musa cavendishii*). Phytochemistry, New York, 19:399-401.

- SUZUKI, J., 1982. Biossíntese e acúmulo de sacarose em cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.): Influência do íon potássio durante diferentes estádios de crescimento. Tese de Doutorado - ESALQ/USP. Piracicaba. 96pp.
- VATTUONE, M.A., F.E. PRADO e A.R. SAMPIETRO, 1981. Cell wall invertase from sugarcane. Phytochemistry, New York, 20:189-191.
- VON UEXUELL, H.R., 1968. Potassium nutrition of tropical crops. In: KILMER, V.J., S.E. YOUNTS e N.C. BRADY (eds.). The role of potassium in agriculture american society of agronomy. Crop. Science. Madison, Winconsin, 385-421p.
- WARD, G.M., 1953. Physiological and biochemical studies in plant metabolism VII. The invertase of the seedling wheat leaf. Canadian Journal of Botany. Ottawa, Canada, 31:81-89.
- ZAGATTO, E.A.G., A.O. JACINTHO, B.F. REYS, F.J. KRUG, H. BERGAMIN FO, L.C.R. PESSEDA, J. MORTATTI e M.F. GINÉ, 1981. Manual de Análises de Plantas e Águas empregando Sistemas de Injeção em Fluxo. Centro de Energia Nuclear na Agricultura/USP. Piracicaba, 45pp.
- ZAGO, E.A., 1978. Acúmulo de putrescina e interrupção da síntese proteica em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) deficiente em potássio. Piracicaba, SP., ESALQ/USP. (Dissertação de Mestrado). 48pp.

7. TABELAS

Tabela 2 - Matéria seca produzida em três estádios do crescimento por segmentos da parte aérea de plantas de cana-de-açúcar, cultivadas em solução nutritiva contendo 3 concentrações de potássio.

Tratamento	Segmento de parte aérea	Matéria seca (g)		
		Dias após o transplante		
		20	40	60
K ₁	Superior	1,35	2,07	7,84
K ₁	Médio	5,30	8,15	21,57
K ₁	Inferior	9,07	14,97	26,82
K ₂	Superior	2,13	3,32	10,07
K ₂	Médio	5,53	10,32	24,97
K ₂	Inferior	10,10	18,82	37,87
K ₃	Superior	2,03	3,05	8,16
K ₃	Médio	5,84	9,65	19,36
K ₃	Inferior	12,13	24,91	26,05
Δ (D.M.S.) 5%:		(entre tratamentos):	3,288	
		(entre épocas):	3,722	
		(entre segmentos):	1,799	
Teste F:		(tratamentos)	: 2,63	
		(épocas)	: 55,82**	
		(segmentos)	: 227,51**	
C.V. %:		(tratamentos)	: 32,18	
		(épocas)	: 40,94	
		(segmentos)	: 22,13	

**Significativo ao nível de 1%.

Δ : Diferença mínima significativa (Teste de Tukey 5%)

C.V.: Coeficiente de variação.

Tabela 3 - Teores de potássio nos segmentos de parte aérea de plantas de cana-de-açúcar cultivadas em solução nutritiva contendo três concentrações de potássio.

Tratamento	Segmento de parte aérea	Potássio (%)		
		Dias após o transplante		
		20	40	60
K ₁	Superior	0,99	0,83	1,12
K ₁	Médio	1,63	1,04	0,98
K ₁	Inferior	1,18	0,99	0,49
K ₂	Superior	2,29	2,00	1,80
K ₂	Médio	3,06	3,05	3,41
K ₂	Inferior	4,85	5,04	3,97
K ₃	Superior	2,62	2,34	2,24
K ₃	Médio	3,14	2,88	3,89
K ₃	Inferior	5,54	5,05	4,49
Δ (D.M.S.):		(tratamentos): 0,201		
		(épocas) : 0,254		
		(segmentos) : 0,201		
Teste F:		(tratamentos): 903,39**		
		(épocas) : 6,05*		
		(segmentos) : 166,29**		
C.V. %:		(tratamentos): 9,16%		
		(épocas) : 13,32%		
		(segmentos) : 12,12		

*Significativo a 5%.

**Significativo a 1%.

Significado dos símbolos - Ver Tabela 2.

Tabela 4 - Conteúdo de Açúcares Redutores Totais (ART), Açúcares Redutores (AR) e Sacarose estimada nos segmentos de parte aérea de plantas de cana-de-açúcar, aos 20 dias após o transplante para solução nutritiva contendo 3 concentrações de potássio.

Tratamento	Segmento de parte aérea	A ç ú c a r e s		
		ART	AR	Sacarose estimada
		mg de glicose/100 mg de matéria seca		
K ₁	Superior	5,40	3,36	1,94
K ₁	Médio	7,46	3,94	3,34
K ₁	Inferior	18,11	10,73	7,00
K ₂	Superior	3,49	2,03	1,39
K ₂	Médio	3,65	1,52	1,90
K ₂	Inferior	7,31	4,00	3,14
K ₃	Superior	3,36	1,46	2,08
K ₃	Médio	4,13	1,53	2,47
K ₃	Inferior	11,59	6,22	5,10
Δ(D.M.S.) 5%	(tratamentos):	1,3562	0,6250	1,0052
	(épocas) :	1,4950	0,8683	0,8219
	(segmentos) :	1,0179	0,6237	0,7300
Teste F:	(tratamentos):	79,7060**	180,43**	11,57**
	(épocas) :	19,8782**	20,99**	10,35**
	(segmentos) :	410,7023**	474,59**	82,85**
C.V. %:	(tratamentos):	20,68	16,85	37,23
	(épocas) :	26,25	26,95	35,04
	(segmento) :	19,51	21,14	33,99

Sacarose estimada(%): ART - AR - 0,95.

Significado dos símbolos - Ver Tabela 2.

Tabela 5 - Conteúdo de Açúcares Redutores Totais (ART), Açúcares Redutores (AR) e Sacarose estimada nos segmentos de parte aérea de plantas de cana-de-açúcar aos 40 dias após o transplante para solução nutritiva contendo 3 concentrações de potássio.

Tratamento	Segmento de parte aérea	A ç ú c a r e s		
		ART	AR	Sacarose estimada
		mg de glicose/100 mg de matéria seca		
K ₁	Superior	3,81	1,65	2,05
K ₁	Médio	4,76	1,84	2,77
K ₁	Inferior	17,95	12,58	4,94
K ₂	Superior	3,34	1,84	1,42
K ₂	Médio	3,94	1,33	2,05
K ₂	Inferior	12,08	7,12	4,70
K ₃	Superior	3,66	1,39	2,29
K ₃	Médio	3,02	1,33	1,66
K ₃	Inferior	6,36	5,02	1,26

Valores de D.M.S., Teste F e C.V. dos teores de açúcares são apresentados na Tabela 4.

Tabela 6 - Conteúdo de Açúcares Redutores Totais (ART), Açúcares Redutores (AR) e Sacarose estimada nos segmentos de parte aérea de plantas de cana-de-açúcar aos 60 dias após o transplante para solução nutritiva contendo 3 concentrações de potássio.

Tratamento	Segmento de parte aérea	A ç ú c a r e s		
		ART	AR	Sacarose estimada
		mg de glicose/100 mg de matéria seca		
K ₁	Superior	3,81	2,35	1,38
K ₁	Médio	8,42	5,40	2,86
K ₁	Inferior	29,24	19,79	10,74
K ₂	Superior	3,65	1,46	2,08
K ₂	Médio	6,19	2,96	3,11
K ₂	Inferior	18,59	11,25	6,98
K ₃	Superior	2,89	1,53	1,26
K ₃	Médio	4,76	2,16	2,46
K ₃	Inferior	11,12	6,03	4,83

Valores de D.M.S., Teste F e C.V. dos teores de açúcares, são apresentados na Tabela 4.

Tabela 7 - Teores de N-total, N- α NH₂ e proteínas nos segmentos de parte aérea de plantas de cana-de-açúcar, aos 20 dias após o transplante para solução nutritiva contendo 3 concentrações de potássio.

Tratamento	Segmento de parte aérea	N-total	N- α NH ₂	Proteína
		(%)	(μ g/100 mg m.s.)	(mg/100 mg m.s.)
K ₁	Superior	0,58	136,90	17,85
K ₁	Médio	0,51	150,60	19,86
K ₁	Inferior	0,27	243,00	11,90
K ₂	Superior	0,67	129,97	17,27
K ₂	Médio	0,29	140,33	17,85
K ₂	Inferior	0,59	304,61	16,11
K ₃	Superior	0,25	147,17	10,16
K ₃	Médio	0,27	150,59	15,67
K ₃	Inferior	0,45	311,45	11,32
Δ (D.M.S.) 5%:		(tratamentos): 0,1289	17,3083	2,2330
		(épocas) : 0,1261	15,6335	1,5961
		(segmentos) : 0,1294	14,3642	2,2189
Teste F:		(tratamentos): 1,63	9,83*	1,60
		(épocas) : 47,56**	5,60*	3,08
		(segmentos): 118,71**	425,47**	11,86**
C.V. %:		(tratamentos): 6,49	11,24	16,91
		(épocas) : 7,31	11,68	13,92
		(segmentos) : 8,19	11,72	21,13

m.s. = matéria seca.

Significado dos símbolos - Ver Tabela 2.

Tabela 8 - Teores de N-total, N- α NH₂ e Proteínas nos segmentos de parte aérea de plantas de cana-de-açúcar aos 40 dias após transplante para solução nutritiva contendo 3 concentrações de potássio.

Tratamento	Segmento de parte aérea	N-total	N- α NH ₂	Proteína
		(%)	(μ g/100 mg m.s.)	(mg/100 mg m.s.)
K ₁	Superior	0,43	130,06	16,11
K ₁	Médio	0,80	147,17	18,02
K ₁	Inferior	0,47	236,16	11,32
K ₂	Superior	0,65	154,02	19,42
K ₂	Médio	0,64	130,06	17,57
K ₂	Inferior	0,25	328,57	14,66
K ₃	Superior	0,42	143,81	13,92
K ₃	Médio	0,75	123,21	16,69
K ₃	Inferior	0,23	164,29	15,82

Valores de D.M.S., Teste F e C.V. dos teores de N-total, N- α NH₂ e proteínas são apresentados na Tabela 7.

Tabela 9 - Teores de N-total, N- α NH₂ e proteína nos segmentos de parte aérea de plantas de cana-de-açúcar aos 60 dias após o transplante para solução nutritiva contendo 3 concentrações de potássio.

Tratamento	Segmento de parte aérea	N-total	N- α NH ₂	Proteína
		(%)	(g/100 mg m.s.)	(mg/100 mg m.s.)
K ₁	Superior	0,36	140,42	10,16
K ₁	Médio	0,29	120,93	15,67
K ₁	Inferior	0,14	253,27	11,32
K ₂	Superior	0,34	123,21	20,76
K ₂	Médio	0,13	116,37	19,45
K ₂	Inferior	0,14	353,67	11,61
K ₃	Superior	0,26	125,49	15,53
K ₃	Médio	0,27	116,37	16,98
K ₃	Inferior	0,09	355,95	14,51

Valores de D.M.S., Teste F e C.V. dos teores de N-total, N- α NH₂ e Proteínas são apresentados na Tabela 7.

Tabela 10 - Atividade de invertase ácida (pH 5,5) e invertase neutra (pH 7,1) em extrato bruto de segmentos de parte aérea de plantas de cana-de-açúcar, aos 20, 40 e 60 dias após o transplante para solução nutritiva contendo três concentrações de potássio.

Tratamento	Segmento de parte aérea	I n v e r t a s e s					
		mg de glucose.h ⁻¹ .200			mg ⁻¹ mat. seca		
		Á c i d a			N e u t r a		
		20	40	60	20	40	60
K ₁	Superior	0,96	0,78	0,62	0,58	0,43	0,36
K ₁	Médio	1,23	1,28	0,62	0,41	0,80	0,29
K ₁	Inferior	0,81	0,83	0,18	0,27	0,47	0,14
K ₂	Superior	0,91	1,09	0,73	0,67	0,65	0,34
K ₂	Médio	0,53	1,05	0,27	0,29	0,64	0,13
K ₂	Inferior	0,48	0,65	0,08	0,59	0,25	0,14
K ₃	Superior	0,46	0,74	0,48	0,25	0,42	0,26
K ₃	Médio	0,47	1,37	0,47	0,27	0,75	0,27
K ₃	Inferior	0,63	0,69	0,13	0,45	0,23	0,09
Δ (D.M.S.) 5%:		(Tratamentos):			0,1207		
		(épocas) :			0,2372		
		(segmentos) :			0,1533		
					0,0922		
Teste F:		(tratamentos):			16,53**		
		(épocas) :			2,53		
		(segmentos) :			13,09**		
					8,96**		
C.V. %:		(tratamentos):			21,12		
		(épocas) :			44,90		
		(segmentos) :			47,76		
					42,12		
					53,86		
					35,37		

Significado dos símbolos - Ver Tabela 2.