UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

Boro em mamoneira: Aspectos morfológicos e fisiológicos relacionados à deficiência e toxicidade

DENIS HERISSON DA SILVA

Dissertação apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências, Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e Ambiente.

P I R A C I C A B A
Estado de São Paulo - Brasil
Maio - 2007

DENIS HERISSON DA SILVA

Engenheiro Agrônomo

Boro em mamoneira: Aspectos morfológicos e fisiológicos relacionados à deficiência e toxicidade

Dissertação apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. TAKASHI MURAOKA

P I R A C I C A B A

Estado de São Paulo - Brasil

Maio - 2007

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

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Silva Denis Herisson da
Boro em mamoneira: aspectos morfológicos e fisiológicos relacionados à deficiência e toxicidade / Denis Herisson da Silva; orientador Takashi Muraoka. - - Piracicaba, 2007.
103 f. : fig.

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

1. Adubação foliar 2. Fotossíntese 3. Isótopos estáveis 4. Micronutrientes I. Título

CDU 633.912

Errata

Aos meus pais, Laércio e Setsuko,

Aos meus irmãos Laércio Jr. e Jean,

A Claudia, pelo amor, carinho e compreensão,

DEDICO

Seca-se a erva e caem
as flores, mas a palavra de
nosso Deus subsiste
eternamente

(Isaías 40.8)

Se tivéssemos de escolher entre
conhecimento e virtude, a última
seria sem dúvida a melhor escolha
pois é mais valiosa. O bom coração que
é fruto da virtude é por si só um
grande benefício para humanidade.
O mero conhecimento, não.

(Tenzin Gyatso, Sua Santidade, o Dalai Lama)

AGRADECIMENTOS

Aos Professores:

Dr. Antonio Enedi Boaretto e Dr. Takashi Muraoka pela orientação, incentivo e apoio nos momentos difíceis desde os tempos de iniciação científica até hoje.
Dr. Cássio H. Abreu Jr. pelo convívio e troca de experiências, informações e auxílio nas análises de espectrometria de massas.
Dra. Neusa de Lima Nogueira pelo companheirismo, recomendações, auxílio e análise dos materiais nos microscópios eletrônicos de transmissão e varredura.
Dr. Hélio Grassi Filho pelas sugestões no seminário e empréstimo do IRGA.
Dra. Adriana P. M. Rodriguez e toda a Comissão de Pós-Graduação pelo empenho na realização do projeto.

Aos Pesquisadores:

Dr. Luis A. Colnago EMBRAPA Instrumentação, e Dr. Gilvan B. Ferreira EMBRAPA Algodão.

Aos Funcionários e Amigos:

Da ESALQ e do CENA: Ademir, Alzira, Anderson, Carlos, Carol, Cleusa, Fernanda, Felipe, Franklin, Freddy, Gera, Guilherme, Guerreiro, Hector, Henriqueta, João Salvador, Keite, Lucia, Maju, Márcio Ramatiz, Marileusa, Michael, Neuda, Raul, Regina, Ricardo, Robinho, Rodrigo Pimentel, Rodrigo Boaretto, Raul, Sandra, Tatiana, Teodoro, Vânia, Zaqueu e outros que de alguma forma contribuíram para a execução deste projeto.
Em especial a Mônica L. Rossi, Milton F. Moares, Renata B. Cruz e ao Vinicius, um grande amigo desde os tempos de graduação.

As Instituições:

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, por colocar à disposição pesquisadores, funcionários e toda infra-estrutura, que possibilitaram a execução do trabalho e pela possibilidade de realização do curso.
Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) e a Fundação de Amparo a Pesquisa no Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão de bolsa e pelo auxílio pesquisa, respectivamente.
Ao Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada à Pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA) da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP).
A EMBRAPA Instrumentação - São Carlos-SP e EMBRAPA Algodão - Campina Grande-PB

RESUMO

A ricinocultura tem se destacado como uma das culturas mais promissoras nas regiões do semi-árido e cerrado, pois o óleo de mamona, além de ser empregado como matéria prima em diversas indústrias, apresenta potencial para fabricação de biodiesel. Este trabalho está fundamentado nas seguintes hipóteses: a) a produção de sementes e óleo de mamona está relacionada com o suprimento de boro (B); b) a toxicidade por este elemento é tão grave quanto a sua deficiência; c) A redistribuição deste micronutriente na planta é baixa ou restrita. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da deficiência e toxicidade de B na mamoneira (*Ricinus communis* L.), utilizando doses deste micronutriente em solução nutritiva, e avaliar a dinâmica do B na mamoneira utilizando compostos enriquecidos isotopicamente em ^{10}B, através de dois experimentos: 1) Doses de 0; 0,025; 0,05; 0,10; 0,27; 2,70; 5,40 mg L^{-1} B em solução nutritiva, com análises da produção de MS, avaliações ultra-estruturais, medições de fotossíntese e transpiração e também o teor e viscosidade do óleo presente nas sementes produzidas. 2) 3 Aplicações de solução de ácido bórico enriquecido isotopicamente em ^{10}B, sendo 2,7 mg B via foliar por planta e 1,0 mg B em solução nutritiva por planta, com posterior determinação de boro total e ^{10}B por ICP-MS das partes da planta. Dentre os resultados obtidos verificou-se que não houve produção de frutos em plantas submetidas às doses de 0 e 0,025 mg L^{-1} B. Entretanto, em plantas apresentando sinais de toxicidade nas folhas, a produção não foi afetada. As principais alterações ultra-estruturais manifestaram-se na deficiência de B, através do espessamento da lamela média e na ausência de grânulos de amido. Dentre as sementes produzidas, os atributos de teor e viscosidade não mostraram diferenças significativas entre os tratamentos. Os valores de fotossíntese e transpiração foram menores nas plantas com deficiência e

não mostraram diferenças significativas nos tratamentos de toxicidade. No segundo experimento, constatou-se que houve redistribuição de B, aplicado via foliar, das folhas para os frutos, mas e pouca redistribuição para as raízes. A aplicação de 1 mg de B por planta em cada troca de solução nutritiva mostrou-se mais eficiente em elevar a produção e os teores de B na planta que as aplicações de 2,7 mg de B por planta através da aplicação foliar. Concluiu-se que, nesta espécie, a toxicidade de boro não é tão grave quanto a sua deficiência e ocorre redistribuição de boro da folha para o fruto, mas não para a raiz.

Palavras chave: Adubação foliar, Fotossíntese, Isótopos estáveis, Micronutrientes.

Abstract

The castor bean production has highlighted as one of the most promising crops in cerrado and semi-arid farmlands, as the castor oil, besides being used in several industries, presents potential for biodiesel production. This work is based in the following hypotheses: a) the production of seeds and castor oil is related with appropriate supply of boron (B), and the interval between the deficiency and boron toxicity is narrow; b) The B toxicity is as serious as its deficiency; c) the phloem mobility in this plant is low or restricted. The objective was to evaluate the effects of boron deficiency and toxicity in castor bean plants (*Ricinus communis* L.), utilizing doses of this micronutrient in nutrient solution, and to evaluate the phloem mobility of boron using ^{10}B enriched compound, through two experiments: 1) doses of 0; 0.025; 0.05; 0.10; 0.27; 2.70; 5.40 mg L^{-1} B in nutrient solution, with analysis of dry matter weight, ultra-structural evaluations, photosynthesis and transpiration rates, and viscosity and oil content in the produced seeds. 2) Three applications of acid boron solution in leaves (2.7 mg of B enriched in ^{10}B per plant) and in nutrient solution (1 mg of B enriched in ^{10}B per plant) with analysis of boron isotope ratio by ICP-MS. Among the results it was verified that there was not fruit yield in plants submitted to doses of 0 and 0.025 mg L^{-1} B. However, the fruit yields were not affected in plants with boron toxicity symptoms in leaves. The main ultra-structural alterations showed in boron deficiency was the thickness (or swollen) of medium lamellae and the absence of starch granules. The oil contents and viscosity in produced seeds did not show differences among the treatments. The photosynthesis and transpiration rates were lower in the plants with deficiency and and there was not significant differences among the treatments with B toxicity. In the second experiment, it was verified the occurrence of boron phloem mobility to fruits from the B applied to the leaves, and

low phloem mobility of boron from leaves to the roots. The application of 1 mg of B per plant in each changes of nutrition solution was shown more efficient to increase the production and B rates in plants than applications of 2.7 mg of B per plant through the foliar application. It concludes that, in this species, the boron toxicity is not as harmful to fruit production as boron deficiency and the phloem mobility occurs from leaves to fruits, but not to roots.

Keywords: Foliar fertilization, photosynthesis, stable isotopes, micronutrients.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Cronograma de procedimentos do experimento 2.....46

Figura 2. Sintomas: A - deficiência de boro; B - normal; C - toxicidade de boro. 1 – Racemo primário; 2 – Folha nova; 3 – Folha velha com clorose marginal. Plantas com 100 dias após ínicio dos tratamentos.....53

Figura 3. A – Secção de brotações laterais; B- Secção de pecíolos de folhas jovens; 1- Tratamento sem aplicação de boro, 2- Tratamento com aplicação de 0,27 mg L^{-1} B. 54

Figura 4. Produção de Matéria Seca dos tratamentos (valores médios dos tratamentos e o erro padrão da média). 54

Figura 5. A - Sistema radicular de planta com sintoma de deficiência de boro (tratamento 0 mg L^{-1} de B). B – planta sob tratamento de 0,27 mg L^{-1} de B. C- planta sob tratamento de 5,4 mg L^{-1} de B. Plantas com 70 dias após o ínicio dos tratamentos.....55

Figura 6. Relação entre a produção de matéria seca de raiz e concentração de B (mg kg^{-1}) 56

Figura 7. Relação entre a produção de matéria seca de caule e a concentração de B (mg kg^{-1}).....58

Figura 8. Relação entre a média produção de matéria seca (MS) de folhas e a concentração média de B no limbo da folha diagnóstica.....60

Figura 9. Relação entre a produção média de matéria seca (MS) e a concentração média de B no pecíolo (folha diagnóstica).....61

Figura 10. Efeito de doses de boro em solução nutritiva na produção de frutos. A= 0; B= 0,025; C= 0,05; D= 0,10; E= 0,27; F= 2,70; G= 5,40 mg L^{-1}B. Plantas com 110 dias após o início do experimento. 63

Figura 11. Relação entre o peso total de sementes (MS) e a concentração média de B nas sementes (racemo primário).....64

Figura 12. Relação entre a produção média de matéria seca de frutos e a concentração média de B no fruto (sem semente).....65

Figura 13. Relação entre o teor de óleo na semente (*in vivo*) e a concentração média de B 67

Figura 14. Relação entre os valores de T2 (viscosidade) do óleo e a concentração média de B da semente.....68
Figura 15. Relação entre a taxa de assimilação de CO_2 e a concentração média de B no tecido (folha nova).....70
Figura 16. Relação entre a taxa transpiratória e a concentração média de B no tecido (folha nova).....71
Figura 18. Relação entre a taxa transpiratória e a concentração média de B no tecido (folha diagnóstica).....74
Figura 19. Relação entre a taxa de assimilação de CO_2 e a concentração média de B no tecido (folha velha).....76
Figura 20. Relação entre a taxa transpiratória e a concentração média de B no tecido (folha velha).....77
Figura 21. Fotomicrografias de transmissão de células do parênquima lacunoso do limbo foliar de mamoneira (folha nova). **A:** Tratamento sem aplicação de boro (12 mg kg $^{-1}$ B); **B:** Tratamento com aplicação de 0,27 mg L^{-1} de boro (28 mg kg $^{-1}$ B).....80
Figura 22. Fotomicrografias de transmissão de células do parênquima lacunoso do limbo foliar de mamoneira (folha velha). **C:** Tratamento com aplicação de 5,40 mg L^{-1} de boro (450 mg kg $^{-1}$ B); **D:** Tratamento com 0,27 mg L^{-1} de boro aplicado (40 mg kg $^{-1}$).....81
Figura 23. Fotomicrografia de varredura da secção do pecíolo (folha velha). **E:** Tratamento 0,27 mg L^{-1} boro (20 mg kg $^{-1}$ B); **F:** Tratamento sem aplicação de boro (11 mg kg $^{-1}$ B): nota-se um desarranjo e obstrução do xilema e maior espessura do pecíolo. Barra: 0,6 mm.....82
Figura 24. Fotomicrografias de varredura da superfície abaxial da folha nova. A - ausência de aplicação de boro; B- Tratamento 0,27 mg L^{-1} B. Em A nota-se a irregularidade da superfície e a presença de estômatos menores, e pouco desenvolvidos (indicado pelas setas). 84
Figura 25. Produção de matéria seca das plantas submetidas aos tratamentos. (valores médios dos tratamentos e o erro padrão da média). 85
Figura 26. Esquema dos procedimentos do 2°experimento. Nos quadros, parte dos resultados obtidos. 89

INDICE DE TABELAS

Tabela 1. Principais efeitos da deficiência de boro em plantas 24
Tabela 2. Concentração final dos elementos na solução nutritiva adotada.....37
Tabela 3. Produção média de matéria seca (MS) e a concentração média de B na raiz.....57
Tabela 4. Produção média de matéria seca (MS) e a concentração média de B no caule.....59
Tabela 5. Produção média de matéria seca de folhas (limbo+pecíolo) e a concentração média de B no limbo foliar.....61
Tabela 6. Produção média de matéria seca de folhas (limbo+pecíolo) e a concentração média de B no pecíolo foliar (folha diagnóstica) 62
Tabela 7. Produção de sementes (g) e a concentração média de B nas sementes (racemo primário) 64
Tabela 8. Produção média de matéria seca de frutos e a concentração média de B no fruto (sem semente) 65
Tabela 9. Teor de óleo (*in vivo*) e a concentração média de B 67
Tabela 10. Viscosidade do óleo (*in vivo*) e a concentração média de B na semente.....68
Tabela 11. Taxa fotossintética e a respectiva concentração média de B no tecido (folha nova). 70
Tabela 12. Taxa transpiratória e a respectiva concentração média de B no tecido (folha nova). 71
Tabela 13. Taxa de assimilação de CO_2 e a respectiva concentração média de B no tecido (folha diagnóstica).....73
Tabela 14. Taxa transpiratória e a respectiva concentração média de B no tecido (folha diagnóstica) 74
Tabela 15. Taxa de assimilação de CO_2 e a respectiva concentração média de B no tecido (folha velha) 76
Tabela 16. Taxa transpiratória e a respectiva concentração média de B no tecido (folha velha).....77
Tabela 17. Comparação entre as concentrações médias de boro total e $\%^{10}B$ nas diversas partes da planta (tratamentos T e X).....90
Tabela 18. Comparação entre as quantidades de boro presente nas plantas dos tratamentos T e X 90

Tabela 19. Comparação entre as concentrações médias de boro total e %^{10}B nas diversas partes da planta (tratamentos T e Y).....91
Tabela 20. Comparação entre as quantidades de boro presente nas plantas dos tratamentos T e Y 91

SUMARIO

Página

1 INTRODUÇÃO 18

2 REVISÃO DE LITERATURA 20

2.1 A cultura da mamoneira 20

2.2 A nutrição mineral da mamoneira 22

2.3 Funções do B e sintomatologia de deficiência e toxicidade 23

2.4 A dinâmica do boro na planta. 27

2.5 A Técnica da Diluição Isotópica de $^{11}B/^{10}B$ 29

2.6 Medições da taxa de assimilação de CO_2 e de transpiração através do Analisador de Gás por Infravermelho (IRGA) 31

2.7 O espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) 32

2.8 A microscopia eletrônica de transmissão e varredura 34

3 MATERIAL E MÉTODOS 36

3.1 Procedimentos comuns aos dois experimentos 36

3.2 Experimento 1 - Efeito de doses crescentes de boro 38

3.2.1 Delineamento experimental 38

3.2.2 Determinação da taxa de Fotossíntese e Transpiração 38

3.2.3 Análise do teor total do óleo e a viscosidade 40

3.2.3.1 Procedimento 1 – Preparação dos padrões para determinação do teor de óleo por RMN: 40

3.2.3.2 Procedimento 2 – Preparação de grãos para análise do teor de óleo (grãos secos): 41

3.2.3.3 Técnicas e especificações dos equipamentos utilizados (RMN) 41

3.2.4 Análise ultra-estrutural de células de mamoneira 41

3.2.4.1 Preparo de espécime para Microscopia Eletrônica de Transmissão 41

3.2.4.2 Preparo de espécime para Microscopia Eletrônica de Varredura 43

3.2.5 Colheita e preparo do material para pesagem e análise química de B total 43

3.2.5.1 Raiz 43

3.2.5.2 Caule 44

3.2.5.3 Folhas 44

3.2.5.4 Racemo, frutos e sementes 44

3.2.6 Análise química do boro total das amostras 45

3.3 Experimento 2 - Absorção, Transporte e Redistribuição do boro na mamoneira ...45
3.3.1 Delineamento experimental 46
3.3.1.1 Procedimentos do Tratamento X 47
3.3.1.2 Procedimentos do Tratamento Y 47
3.3.1.3 Procedimentos do Tratamento T....48
3.3.2 Coleta e determinação da discriminação isotópica....48
3.4 Interpretação dos resultados....49
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO....51
4.1 Experimento 1 - Efeito de doses de boro 51
4.1.1 Sintomas morfológicos de toxicidade 51
4.1.2 Sintomas morfológicos de deficiência....52
Efeitos da deficiência e toxicidade de boro 55
4.1.2.1 Raiz....55
4.1.2.2 Caule 57
4.1.2.3 Folhas (limbo e pecíolo)....59
4.1.2.4 Produção de sementes e frutos do racemo primário 62
4.1.2.5 Teor e viscosidade de óleo das sementes....66
4.2 Taxa de Assimilação de CO_2 e Transpiração....69
4.2.1.1 Folha nova 69
4.2.1.2 Folha diagnóstica....72
4.2.1.3 Folha velha 75
4.2.2 Análise ultra-estrutural através da Microscopia Eletrônica de Transmissão e Varredura 78
4.3 Experimento 2 - Absorção, Transporte e Redistribuição do boro na mamoneira ...85
4.3.1 Produção de matéria seca....85
4.3.2 Absorção foliar....86
4.3.3 Redistribuição de boro na mamoneira....87
4.3.4 Transporte de boro na mamoneira 88
4.3.5 Comparações de eficiência 88
5 CONCLUSÕES....92
REFERÊNCIAS....93

1 INTRODUÇÃO

A poluição atmosférica é uma das mazelas da sociedade contemporânea que tem se desenvolvido através da utilização de combustíveis fósseis. O Brasil possui a maior biodiversidade do mundo, estimada em cerca de 20% do número total de espécies do planeta (Calixto, 2003), justificando a sua riqueza também em plantas oleaginosas e com alto rendimento lipídico. A mamoneira é uma euforbiácea adaptada às condições climáticas do Semi-Árido Nordestino, sendo uma alternativa potencial para geração de emprego e renda para agricultores familiares (Parente, 2003). A produção de óleo de mamona (rícino), matéria prima de alto valor agregado para diversas aplicabilidades, atualmente têm se destacado para a produção de biodiesel.

Dentro deste contexto, a adubação é um importante fator de produção e o boro é o micronutriente que mais tem limitado a produção agrícola em solos brasileiros e muito se deve à baixa redistribuição deste elemento nas plantas (Malavolta, 1980). Com o advento do ICP-MS, tornou-se possível distinguir isótopos estáveis de boro, e utilizando-se de compostos enriquecidos em ^{10}B, tornou-se viável os estudos de

absorção, transporte e redistribuição de B nas plantas. Com esta técnica descobriu-se que a redistribuição de boro na planta varia entre as espécies (Furlani, 2004).

A aplicação excessiva deste elemento pode causar toxicidade, pois se acredita que o intervalo entre os limites de deficiência e toxicidade é muito estreito (Havlin et al., 2005; Malavolta et al., 1997). Geralmente os sintomas de deficiência têm sido descritos visualmente, entretanto as alterações ultra-estruturais podem ser vistas com a técnica de microscopia eletrônica (Epstein; Bloom, 2005).

Este trabalho está fundamentado nas seguintes hipóteses:

1 - O suprimento adequado de boro é imprescindível na produção de mamona,

2 - O intervalo entre o limite de deficiência e toxicidade na mamoneira é estreita, e desta forma a toxicidade é tão grave quanto a deficiência.

3- A mamoneira apresenta baixa ou restrita redistribuição na planta.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura da mamoneira

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) é uma euforbiácea originária da África (Joly, 2002). Especificamente a mamoneira é procedente da Etiópia, cujas sementes foram trazidas ao Brasil há alguns séculos.

Considerada uma planta de fácil cultivo, resistente a relativa escassez de água, por isso é largamente adaptada às mais variadas condições edafoclimáticas, sendo encontrada vegetando livremente em áreas rurais, margens de estradas, fazendas abandonadas, depósitos de lixo, terrenos baldios, nas várzeas de rios, em áreas não inundáveis e em solos argilosos ou arenosos.

O óleo de mamona ou de rícino, extraído por prensagem, contém 90% de ácido ricinoléico, o qual confere características singulares ao óleo, servindo de matéria-prima para uma ampla gama de aplicações industriais: química, têxtil, papéis, plásticos e borracha, perfumaria, cosméticos, farmácia, eletro-eletrônicos e telecomunicações, tintas, adesivos, lubrificantes etc. (Gonçalves et al., 2005). Entretanto, a opção mais proeminente é a transformação do óleo em biocombustível, e o governo brasileiro indicou a mamona como primeira escolha para

desenvolvimento de projetos relacionados com a agricultura familiar e programas de produção de biodiesel (Teixeira, 2005).

A inserção do biodiesel na matriz energética brasileira dá-se através da lei federal 11.097/2005, que prevê a autorização da mistura biodíesel-díesel em escala comercial na proporção de 2% de biodíesel e 98% óleo diesel, passando a ser obrigatória esta mistura em 2008. Este índice deve ser aumentado com o passar dos anos. Pelo que se tem observado com relação aos recursos de óleos vegetais em diversas regiões do Brasil e também com relação às políticas sociais do governo atual, a tendência da produção de biodíesel é ter sua matéria-prima regionalizada. No nordeste brasileiro, a produção deve ter como matéria-prima a mamona e deverá estar atrelada à agricultura familiar.

A mamona também é conhecida desde tempos remotos pela sua toxicidade. Existem relatos de óbitos de crianças por ingestão de uma semente e de adulto por ingestão de duas ou mais sementes. Apesar da alta toxicidade das sementes, o óleo de rícino não é tóxico, pois a ricina, principal componente tóxico das sementes, não é solúvel em lipídios, ficando restrita à torta. Os principais componentes tóxicos da torta são: Ricina (1,50%), Ricinina (alcalóide - 0,23%) e alergênios da mamona (0,09 a 4,20%) (Severino, 2005). Desta forma, a torta de mamona deve passar por processo de desintoxicação antes do consumo animal, ou utilizada diretamente como adubo, apresentando um efeito nematicida (Savy Filho, 2005).

A mamoneira precisa de chuvas regulares no início do ciclo e de um período seco para a maturação dos frutos. Apresenta, em geral, um ciclo de 180 a 240 dias, sendo recomendado o plantio no ínício da estação chuvosa. As sementes apresentam-se com diferentes tamanhos, formatos e grande variabilidade de coloração, contendo um teor de óleo entre 45-50% (Savy Filho, 2005).

Atualmente o Brasil ocupa a terceira posição na produção mundial de mamona, com participação de 11,4%. O Estado da Bahia é o maior produtor de mamona do país, com cerca de 85% do total produzido (IBGE, 2006). O agricultor comercializa as sementes, não existindo uma cultura de extração do óleo em cooperativas ou associações.

2.2 A nutrição mineral da mamoneira

A adubação da mamoneira ainda é pouco estudada no Brasil, principalmente nos estados do Nordeste, principal região produtora, e no cerrado do Centro-Oeste, região onde a cultura é emergente (Embrapa, 2005). O elemento absorvido em maior quantidade pela mamoneira é o nitrogênio, seguido pelo potássio, cálcio e o magnésio. A produtividade é influenciada pela adubação que além de aumentar a produção de frutos, tornam as sementes maiores e mais pesadas, sendo o óleo o principal constituinte do endosperma. O fósforo é o macronutriente que mais tem se destacado na nutrição mineral de plantas, por estar em menor disponibilidade nos solos brasileiros, além de ter influência na produção de mamona por racemo (Savy Filho, 2005).

Entre as deficiências dos micronutrientes, a de boro (B) é a que aparece com maior freqüência (Blevins; Lukaszewsky, 1998), principalmente nas culturas cultivadas em solos de textura arenosa, onde o B, na forma de ácido bórico na solução do solo, pode ser lixiviado no perfil. Um dos primeiros trabalhos publicados sobre deficiência deste micronutriente em mamoneira no campo foi o de Paulo et al. (1989), que constataram a deficiência de B no período seco. Outros experimentos envolvendo estudos sobre micronutrientes na mamoneira em solução nutritiva foram desenvolvidos por Lange et al. (2005), cultivar Íris, realizadas com o método de

subtração de elementos. Constatou-se uma grande importância do B para produção de mamoneira, pois na ausência deste, ocorreu baixa formação de frutos e queda dos frutos formados.

Elevadas concentrações de boro podem ocorrer naturalmente em solos, em águas subterrâneas, ou mesmo pela ação antrópica, seja através da água de irrigação ou pela adição de fertilizantes. Além disso, a toxicidade de boro pode limitar o crescimento das plantas em regiões áridas e semi-áridas, em razão da salinidade (Nable et al, 1997).

2.3 Funções do B e sintomatologia de deficiência e toxicidade

Descoberto por Gay-Lussac e Thenard na França e Humphry Davy na Grã-Bretanha em 1808 (Chemsoc, 2005), o B foi isolado pela primeira vez em 1808 pelo aquecimento de óxido de boro (B_2O_3) com um metal de potássio. O pó preto, acastanhado impuro e amorfo, foi à única forma de B conhecida por mais de um século (Benton, 1974). Em 1923, Warington descobriu a essencialidade deste elemento para as plantas (Marschner, 1995).

O boro é um elemento essencial para as plantas, mas não foi demonstrada a essencialidade para os animais (Pais; Benton Jones, 2000). Este elemento é um dos que com, maior freqüência, limita produção agrícola em solos tropicais. De acordo com Mengel e Kirkby (2001), a importância deste elemento na produção está relacionada não somente à sua falta, mas também ao seu excesso.

Este micronutriente difere dos demais pela não identificação de sua participação na composição de qualquer composto ou enzima específica, sendo sua essencialidade determinada pelo critério indireto (Malavolta, 1980). Desta forma, a

função direta deste micronutriente ainda não está completamente elucidada. Furlani (2004) descreveu os principais efeitos da deficiência de boro, dividindo em efeitos primários e secundários, com base em estudos realizados por Brown e Shelp (1997a), conforme a tabela 1:

Tabela 1. Principais efeitos da deficiência de boro em plantas

Efeitos primários:
a) Mudanças na composição química e ultra-estrutura da parede celular
b) Mudança no metabolismo de fenóis (acumulação de certos fenóis)
c) Inibição da síntese de lignina e estímulo da atividade da oxidase de AIA
d) Diminuição do nível de AIA difusível
e) os efeitos citados em mudanças fisiológicas e morfológicas da interface entre a parede celular e a membrana plasmática
Efeitos secundários
a) O acúmulo de fenóis diminui o nível de AIA difusível e aumenta a produção de radicais livre de superóxidos.
b) Aparecem sintomas induzidos de deficiência de Ca.
c) O aumento de radicais livres de superóxidos dessarranja a membrana plasmática
d) Em consequência dos efeitos no xilema, ocorrem mudanças na distribuição de carboidratos
e) Em consequência de todos os demais efeitos, ocorrem alterações no metabolismo de fitormônios e de RNA/DNA

Segundo Matoh (1997) a localização deste nutriente, em grande parte nas paredes celulares, indica que este elemento desempenha função estrutural. O mesmo autor indica a associação deste micronutriente com um polissacarídeo denominado *rhamnogalacturonan II (RGII)*, formando uma “rede” de polissacarídeos pectínicos. Este polissacarídeo foi identificado em 2 Brássicas, 3 Cucurbitáceas, 4 Leguminosas, 2 Apiáceas, 2 Chenopodiáceas, 2 Solanáceas, 2 Asteráceas, 1

Liliácea, 2 Amariliáceas e 3 Gramíneas. Ainda não foi encontrada na literatura nenhuma informação sobre a presença desta estrutura em espécies da mesma família botânica da mamoneira (Euforbiácea).

O boro desempenha diversas funções na integridade de membranas. Uma delas é formação de complexos, através de ligações “cis-diol” com glicoproteínas que são constituintes estruturais da membrana plasmática (Goldbach et al. 2007). Verstraeten et al. (2005) acreditam que o boro interage com fosfolipídeos carregados negativamente ou com aqueles que possuem sacarídeos em sua estrutura, e que portanto este elemento tem uma função na reologia da membrana celular, regulando a hidratação e fluidez da membrana.

Em plantas deficientes em boro houve redução na concentração de ácido ascórbico, que é conhecido como um antioxidante natural. O rápido desencadeamento destes processos parece dificultar cada vez mais a investigação sobre a função específica deste micronutriente (Marschner, 1995).

A deficiência de boro causa o acúmulo de fenóis e quinonas tóxicas que também interferem nos níveis de ácido Indolacético (Cakmak; Romheld, 1997). Este efeito negativo sobre a concentração de AIA foi verificado através da perda de dominância apical em mamoneiras conduzidas sem boro (Lange et al., 2005).

Grassi Filho (1991) analisou o vigor do Limoeiro Cravo (*Citrus limonia*), cultivado em solução nutritiva contendo 0,063; 0,125; 0,25; 0,5 mg L^{-1} de boro e verificou que a concentração de 0,5 mg L^{-1} de boro promoveu um maior comprimento de raízes.

Goldbach et al. (2007) descrevem que a função do boro no processo fotossintético ainda é desconhecida, mas a deficiência pode afetar o funcionamento das membranas do cloroplasto, afetando o transporte de elétrons no tilacóide,

resultando em fotoinibição. Entretanto, a deficiência de boro pode afetar a indiretamente a fotossíntese e a transpiração através da diminuição da área foliar e pela alteração dos compostos presentes na folha. Conforme Sharma e Ramchandra (1990) em folhas de mostarda desenvolvidas sob deficiência de boro apresentaram baixa condutância estomática para o CO_2, redução de clorofilas e proteínas solúveis (enzimas fotossintéticas), que por sua vez prejudicam o desempenho fotossintético.

Em relação à toxicidade de B, Dechen e Nachtigall (2006) afirmam que a toxidez de boro é tão grave quanto a deficiência. Havlin et al. (2005) relatam que a quantidade que separa a toxidez e a deficiência de B na planta é muito pequena. Entretanto, Papadakis et al., (2004) sugerem que a imobilidade do boro pode ser considerada um mecanismo de defesa das plantas ao excesso deste micronutriente, e que pode haver um bom crescimento vegetativo, com teores elevados de B em folhas velhas e níveis normais em folhas novas. Contudo, Marschner (1995) descreve que o limite crítico para a toxicidade de B varia acentuadamente entre espécies (na matéria seca de folhas): 100 mg kg^{-1} para a soja; 100 mg kg^{-1} para o milho; 400 mg kg^{-1} para o pepino; 1.000 mg kg^{-1} para a abobrinha; e entre 100 e 270 mg kg^{-1} para os cultivares de trigo.

Os sintomas mais característicos de toxicidade são as cloroses marginais e pontos cloróticos, que se agravam desde a borda do limbo, onde se concentram altas concentrações de boro. Em casos extremos, ocorre necrose e desfolhamento. Os efeitos do excesso de boro na fotossíntese podem estar relacionados aos danos na estrutura do tilacóides, que afetam o transporte de elétrons, conforme a conclusão de Papadakis et al. (2004).

2.4 A dinâmica do boro na planta

A absorção, o transporte e a redistribuição de nutrientes pelos vegetais são processos distintos. O primeiro, diz respeito à passagem do nutriente do meio externo da planta, para o espaço intercelular ou qualquer outra parte da célula. O transporte é o movimento do nutriente no órgão de absorção ou para outro órgão da planta. A redistribuição refere-se ao movimento do nutriente do local onde foi depositado, pelo movimento da água no xilema (ou onde foi depositado pela adubação foliar), para outros órgãos da planta, processo que se dá pelo floema e se refere a produtos assimilados (Boaretto, 2006)

O B é absorvido na forma de H_3BO_3 e move-se na planta através do fluxo transpiratório realizado através do xilema e tende a ficar retido na fração péctica da parede celular. Conforme mencionado anteriormente, quando o nutriente faz parte de estruturas celulares, como paredes e membranas, a mobilidade no floema é restrita e os sintomas aparecem nas folhas mais novas. Desta forma, numa situação de baixa temperatura ou estiagem, pode ocorrer indisponibilidade de B nas partes reprodutivas. Se esta indisponibilidade ocorrer durante as fases críticas de reprodução ocorrerão grandes perdas de produção (Furlani, 2004).

Nas espécies que ocorre redistribuição de B notou-se a formação de complexos poliol-B-poliol responsáveis pela mobilidade deste micronutriente, da folha para as brotações e frutos, através do floema (Brown; Hu, 1998; HU et al., 1997; Brown et al., 1999). Estes polióis são açúcares simples, como o sorbitol, manitol e dulcitol, e estão presentes em muitos vegetais, determinados por Zimmermann e Ziegler (1975).

As espécies que demonstraram a produção destes polióis, manifestaram imunidade à deficiência de B causada por estiagem ou baixa temperatura, em

conseqüência da habilidade de redistribuir o micronutriente pela planta (Brown; Shelp, 1997b).

Malavolta et al. (1997) classificam o boro e o cálcio como imóveis quanto à redistribuição. O mesmo autor cita que sempre existe redistribuição, mas muitas vezes esta não é suficiente para suprir a demanda de órgão novos em determinadas condições. Com o advento da utilização de traçadores isotópicos, descobriu-se que o boro pode apresentar expressiva mobilidade no floema. Desta forma, Marschner (1995) propôs uma a classificação do boro como micronutriente de mobilidade intermediária. No entanto, Welch (1999) classificou os nutrientes de acordo com a capacidade da espécie em remobilizá-lo para a semente, garantindo a viabilidade desta e a sobrevivência da geração seguinte, sendo que o boro foi classificado por este autor como micronutriente de mobilidade condicional (dependente da espécie).

Desta forma, as espécies vegetais diferem intensamente quanto à mobilidade de B, podendo classificá-las em espécies em que a redistribuição do micronutriente é restrita e espécies em que o B é altamente móvel (Brown; Shelp, 1997a). Conforme Furlani (2004), nenhum outro nutriente apresenta tal variação genética entre as espécies em relação à mobilidade de B no floema. Na literatura não se encontrou estudo sobre a redistribuição deste nutriente em mamoneira (*Ricinus communis* L.) ou mesmo em alguma espécie da mesma família botânica. Os estudos sobre a redistribuição de boro ou a presença destes polióis nesta euforbiácea poderiam abrir novas pesquisas através do desenvolvimento de plantas transgênicas, que sintetizam sorbitol, como forma de aumentar a tolerância desta planta à deficiência de boro, de forma análoga aos trabalhos desenvolvidos por Brown et al. (1999) em plantas de *Nicotiana tabacum*. No entanto, a presença ou não destas substâncias e conseqüentemente a redistribuição de B na mamoneira

ainda permanece em dúvida. O sucesso de uma eventual aplicação foliar de boro para remediar uma planta com baixo suprimento deste micronutriente dependeria da redistribuição deste nutriente (Brown; Hu, 1999).

Com o advento do Espectrômetro de Massas com Plasma Acoplado (ICP-MS), as técnicas de determinação de micronutrientes receberam um grande impulso, com a capacidade de distinguir não apenas os diferentes elementos químicos, mas também os seus isótopos estáveis. Tais técnicas permitem estudar a dinâmica de elementos na planta através de métodos que envolvem as diferenças de relação isotópica entre a fonte aplicada e determinada, como será detalhado a seguir.

2.5 A Técnica da Diluição Isotópica de $^{11}B/^{10}B$

A utilização de compostos enriquecidos com isótopos pode ser uma ferramenta útil no estudo da dinâmica destes elementos na planta. O método da diluição isotópica consiste na adição de quantidades conhecidas de um composto enriquecido com isótopos do elemento na amostra. Após atingir o equilíbrio, a solução é analisada e o espectro de massas obtido é usado para medir a alteração na razão isotópica. Desta forma, a quantificação elementar na diluição isotópica baseia-se em diferença de massas, constituindo-se em medida absoluta e exata (Fasset; Paulsen, 1989).

Certos elementos químicos que ocorrem na natureza apresentam o mesmo número atômico e diferente número de massa (chamado de isótopos), sendo que a abundância natural varia de acordo com o elemento. A abundância isotópica natural é porcentagem de um isótopo em relação aos demais do mesmo elemento que ocorrem naturalmente. No caso do B, o ^{11}B apresenta ocorrência de 80,1% e o seu isótopo (estável) ^{10}B ocorre na natureza em 19,9%, resultando numa razão isotópica de 4,044 (Heath, 1973). Entretanto, em decorrência das reações químicas e

processos físicos pode ocorrer variação na abundância entre os isótopos de um elemento, entretanto este fenômeno é desprezível para os experimentos com vegetais em que se utilizam materiais enriquecidos em ^{10}B (Boaretto, 2006).

Um dos aparelhos utilizados para gerar este espectro de massas é ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry), um espectrômetro de massas com uma fonte de plasma acoplada, considerado por Sah e Brown (1997) um aparelho altamente indicado para a determinação isotópica deste micronutriente.

Os componentes fundamentais do ICP-MS são: sistema de introdução de amostras; fonte de ionização; sistema de condução e focalização de íons; analisador de massas; e detector. O método convencional de introdução de amostras no plasma é a nebulização da solução formando um fino aerossol através de um nebulizador acoplado a uma câmara de expansão. O plasma é produzido pela ionização parcial de um gás, geralmente argônio, introduzido continuamente em uma tocha de quartzo, cujo extremo é colocado no interior de uma bobina solenoidal de cobre conectada a uma fonte de radiofreqüência, induzindo um campo magnético oscilante, permitindo a formação e manutenção do plasma. A energia produzida pelo plasma é suficiente para produzir a ionização da maioria dos elementos da amostra (Bellato, 1999).

A interface entre o plasma e espectrômetro de massas é composta por dois cones metálicos, o primeiro para amostragem dos íons no plasma e o segundo para extração. Entre os cones, em função da diferença de pressão, ocorre uma expansão do material amostrado do plasma e os íons são acelerados na direção do cone de extração e atingem a região das lentes iônicas. Diferenças de potenciais aplicadas entre essas lentes permitem a focalização e condução dos íons para o analisador de massas podendo discriminar os isótopos entre as massas 4 (Lítio) e 238 (Urânio). O

quadrupolo, constituído por quatro cilindros paralelos e eqüidistantes de um eixo central, gera diferenças de potenciais alternadas e contínuas que causam variações nos movimentos dos íons, que poderão ser desviados ou conduzidos entre os cilindros, até atingir o detector (Giné et al., 1999).

2.6 Medições da taxa de assimilação de CO_2 e de transpiração através do Analisador de Gás por Infravermelho (IRGA)

O termo fotossíntese significa literalmente “síntese pela luz”. Os organismos fotossintéticos utilizam energia solar para sintetizar compostos orgânicos que não podem ser formados sem a captação de energia. A energia na forma destes compostos pode ser usada posteriormente nas reações celulares da plantas, servindo também como fonte de energia para as demais formas de vida. É no mesófilo foliar onde ocorre a maior parte da atividade fotossintética em plantas superiores. Nos cloroplastos das células do mesófilo, encontram-se as clorofilas que são pigmentos verdes especializados na absorção de luz. Durante a fotossíntese, a planta usa energia solar para oxidar a água, resultando na evolução de O_2 e redução de CO_2 a carboidratos e açúcares primários (Romano, 2001).

A transpiração é um fenômeno bastante influenciado pelas condições do ambiente, principalmente a temperatura e o déficit de saturação do ar. Sob idênticas condições, diferenças neste parâmetro podem indicar um mecanismo estomático mais ou menos eficiente, implicando na economicidade de água pela planta (Inoue; Ribeiro, 1988)

O Infrared gas analyzer (IRGA) é um aparelho que mede a assimilação de CO_2 e H_2O pela folha. Com o advento do aparelho Portable Photosynthesis System, modelo Li 6400 (Li-COR, Lincoln, USA), tornou-se possível à realização de medições

em casa de vegetação ou mesmo no campo. O aparelho é composto basicamente por 2 compartimentos:

1 – *Sensor head*: destinada à fixação na planta (limbo foliar), é composta basicamente por câmara fotossintética, sistemas de arrefecimento, lâmpada, termopar, sensor quântico e sistemas de detecção.

2 - Console: é a unidade de processamento e controle, responsável pela interpretação dos sinais, emissão e admissão do ar no "*Sensor head*".

O princípio básico de funcionamento deste aparelho está na propriedade do CO_2 e do H_2O em absorver o infravermelho. A medida da taxa de assimilação de CO_2 neste sistema é baseada nas diferenças de concentração de CO_2 entre o ar que entra e o ar que deixa a câmara fotossintética. A transpiração também pode ser medida da mesma forma. Os controles das concentrações de H_2O e CO_2 são realizadas através de sistemas eletromecânicos e podem direcionar o fluxo de ar inicial (contendo CO_2 e H_2O) em tubos contendo soda calcária (para retenção do CO_2) e/ou drierite (para retenção de H_2O), antes de passar pela câmara fotossintética.

2.7 O espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A crescente importância do óleo de mamona fez aumentar a produção e a valorização das sementes. Assim a obtenção de informações completas sobre a qualidade das sementes produzidas faz-se importante para a produção e comercialização destes produtos. A espectrometria de ressonância magnética nuclear (RMN) tem sido um método alternativo a esta medida, apresentando as seguintes vantagens: rapidez da análise (segundos), não destrói a amostra (pode ser analisada em outros métodos ou repetida), não precisa de preparações

sofisticadas, o que pode prescindir o uso de produtos químicos adicionais (Colnago, 1996).

A ressonância magnética nuclear é um fenômeno que ocorre quando se coloca a amostra em um campo magnético forte e os *spins* nucleares passam a precessionar em torno da direção deste campo, com uma freqüência angular (freqüência de Larmor). A condição de ressonância ocorre quando se aplica uma freqüência (pulso de curta duração e alta potência) igual à freqüência de precessão do núcleo, e por ressonância os *spins* absorvem energia. Após o pulso, os *spins* excitados retornam ao estado fundamental gerando sinais que são proporcionais à concentração de hidrogênio na amostra e podem ser usadas na determinação do teor de óleo em sementes. Este fenômeno que pode ser observado com qualquer isótopo que contém o spin total 1 e isso só não ocorre para isótopos com número par de prótons e nêutrons como o C^{12} e o O^{16}, por exemplo. O mais usado é o H^{1}, por ter alta abundância natural e é usado atualmente para medir o teor de óleo.

Os espectrômetros de RMN são constituídos, basicamente, de um imã, um transmissor, uma sonda e um receptor. O imã tem a função de determinar a freqüência de precessão dos spins e, desta forma, a freqüência de ressonância do aparelho. O transmissor emite uma freqüência de rádio, que entra em ressonância com os *spins* em precessão. A sonda é o local onde a amostra é inserida e onde as ondas de rádio são convertidas em campo magnético oscilante para indução das transições dos spins oscilantes. A sonda também é o sensor que capta o sinal de RMN, onde é sintonizada entre o receptor e transmissor. Já o receptor tem a função de amplificar e detectar o sinal vindo da sonda, que é armazenado e processado em um computador (Colnago, 1996).

Para se obter somente a intensidade do teor de óleo, usa-se a diferença do tempo de relaxação (T_2) entre vários constituintes da amostra que contém hidrogênio. Desta forma, proteínas, carboidratos, e água de hidratação tem T_2 curto (microsegundos) e a água livre e o óleo tem T_2 mais longo (milisegundos).

Quanto mais viscoso o óleo, menor o tempo de relaxação. Desta forma é possível verificar se há diferença entre a viscosidade das sementes produzidas no experimento.

2.8 A microscopia eletrônica de transmissão e varredura

Os estudos relacionados aos sintomas de deficiência de nutrientes têm sido descritos visualmente. Entretanto as alterações ultra-estruturais podem ser inferidas com a técnica de microscopia eletrônica (Epstein; Bloom, 2005). Uma das limitações da microscopia ótica é o aumento máximo conseguido que fica em torno de 2.000 vezes. Como conseqüência, pequenos detalhes estruturais não são possíveis de serem detectados através desta técnica. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) e transmissão (MET) se apresentam como as técnicas mais adequadas, pois permite alcançar aumentos muito superiores ao da microscopia ótica.

O microscópio eletrônico de transmissão é usado para obter imagens de estruturas internas pela transmissão de elétrons através de secções ultrafinas de tecidos incluídos em resina apropriada.

O microscópio eletrônico de varredura é usado para obter imagens da superfície da amostra através de uma “varredura em zigue-zague” do feixe eletrônico sobre o espécime, de maneira contínua. Tal feixe interage com o espécime, induz a liberação dos elétrons dos átomos de sua superfície e são coletados por um detector que reproduz a imagem em um monitor.

Este método pode verificar os efeitos da deficiência e toxicidade de boro na organização das estrututuras celulares, pois em condições de deficiência e toxicidade, as modificações subcelulares sempre precedem os sintomas visíveis (Malavolta et al., 1997).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Procedimentos comuns aos dois experimentos

Os experimentos foram conduzidos com a mamoneira cultivar Sanana, em vasos individuais de solução nutritiva aerados permanentemente, através da dissolução de reagentes em água desionizada, na casa de vegetação do CENA/USP, cidade de Piracicaba, Estado de São Paulo. A solução nutritiva padrão utilizada foi a proposta por Johnson et al. (1957), exceto o micronutriente B, que foi aplicado conforme o experimento e os tratamentos. Todas as soluções estoque foram armazenadas em recipientes plásticos, evitando a contaminação por borossilicatos. As sementes de mamoneira foram semeadas em tubetes plásticos contendo areia lavada, com regas diárias de solução contendo 1/5 da concentração de nutrientes, sem boro (1°experimento) e com 0,27 mg L^{-1} de B (2° experimento). Os transplantes para os vasos foram realizados quatro semanas após a semeadura, quando as plantas atingiram o estádio cotiledonar, fazendo-se a seleção quanto à uniformidade de tamanho e vigor da planta, colocando uma unidade por vaso.

Cada vaso recebeu 10 L de solução nutritiva e, à medida que ocorria diminuição do volume da solução em virtude da transpiração, fez-se uma reposição com água desionizada até completar o volume inicial. O pH das soluções manteve-se entre 4 a 7 sem a necessidade de correções. As trocas das soluções foram feitas periodicamente, quando a condutividade elétrica (CE) atingia 60 % ± 10 % da CE inicial.

Tabela 2. Concentração final dos elementos na solução nutritiva adotada.

Elemento	Concentração final (mg L^{-1})
N	224
K	235
Ca	160
P	62
S	32
Mg	24
Cl	1,77
B	*
Mn	0,11
Zn	0,131
Cu	0,032
Mo	0,05
Fe	1,12

*** Concentração conforme o experimento e o tratamento**

3.2 Experimento 1 - Efeito de doses crescentes de boro

A fonte de boro utilizada neste experimento foi obtida através da dissolução de ácido bórico P.A. (17% de B).

No dia 3 de setembro de 2005, sementes de mamoneira do cultivar Savana foram semeadas. O transplante das mudas para os recipientes contendo solução nutritiva a 1/5 da concentração inicial foi realizado no dia 15 de setembro de 2005, onde se iniciaram os tratamentos. No dia 22 de setembro de 2005 foi realizada a troca da solução nutritiva por outra a 50%. No dia 1 de outubro de 2005, os tratamentos receberam solução nutritiva completa, através da aplicação de alíquotas de solução estoque em 10L de água desionizada.

3.2.1 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com 7 tratamentos, doses de A= 0; B= 0,025; C= 0,05; D= 0,10; E= 0,27; F= 2,70; G= 5,40 mg L^{-1} de B, e 3 repetições. A cada 4 semanas as plantas foram trocadas de lugar entre os blocos, de modo a diminuir a diferença de luminosidade, vento etc.

3.2.2 Determinação da taxa de Assimilação de CO_2 e Transpiração

As determinações da taxa de assimilação de CO_2 e de transpiração foram realizadas no período reprodutivo (1/12/2005) com a utilização do analisador de gás por infravermelho portátil (Infrared Gas Analyzer - IRGA), modelo Li 6400 (Li-COR, Lincoln, USA).

As medições foram realizadas em 3 dias consecutivos, entre os dias 29 de novembro a 01 de dezembro de 2005 no período da manhã, das 8:00 às 9:30. Estas foram obtidas comparando-se as concentrações de CO_2 e H_2O na mistura gasosa anterior à entrada no aparelho e após a passagem pela folha. Assim foi possível medir quanto que a folha absorveu de CO_2, e/ou liberou em H_2O por unidade de área por tempo.

As determinações das trocas gasosas foram realizadas em plantas ao acaso, dentro do mesmo bloco, um bloco por dia. Desta forma, no primeiro dia as medições foram realizadas nas plantas do bloco 1, no segundo dia as medições foram realizadas nas plantas do bloco 2, no terceiro dia as medições foram realizadas nas plantas do bloco 3. Neste trabalho, a folha considerada como "velha" foi a da segunda inserção, de baixo para cima na planta, a partir da folha sem sinal de senescência. A folha considerada como "diagnóstica" foi a terceira folha plenamente formada, de cima para baixo. A folha considerada como "nova" foi a ultima folha plenamente formada, logo abaixo do racemo primário.

A área foliar considerada foi de 6 cm², em função do tamanho do limbo foliar que ocupou toda a área da câmara fotossintética. O valor de StomRT utilizado foi 1, pois conforme a análise prévia de microscopia eletrônica de varredura, a folha da mamona possui um número estômatos adaxiais aparentemente iguais ao número de estômatos abaxiais.

O fornecimento de ar no sistema, foi mantido em 400 µmol s^{-1}, com concentração de CO_2 de aproximadamente 400 μmol CO_2 mol $^{-1}$, obtido fora da casa de vegetação através de um buffer. A intensidade luminosa utilizada (PARi) foi de 1200 μmol m^{-2} s^{-1}, que mostrou a maior taxa de assimilação de CO_2, determinada

previamente em uma planta do tratamento 0,27 mg L^{-1} B, antes da análise. A temperatura da folha foi mantida em 25 a 30°C.

Após a medição, cada folha foi destacada, colocada em saco de papel e submetida à estufa 65°C até peso constante, moída, e o B total analisado, pelo método colorimétrico por Azometina-H (Malavolta et al., 1997).

3.2.3 Análise do teor total do óleo e a viscosidade

A análise do teor de óleo e determinação da % de ácidos graxos nas sementes foi realizado "*in vivo"* por Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) na Embrapa Instrumentação (São Carlos – SP), após a colheita, conforme os procedimentos a seguir:

3.2.3.1 Procedimento 1 – Preparação dos padrões para determinação do teor de óleo por RMN:

Para obtenção da curva de calibração, foram utilizadas as sementes de mamoneira, cultivar Savana, do mesmo lote utilizado no experimento, cujo teor médio de boro apresentou 15 mg kg^{-1}. As sementes foram secas em estufa a 105°C por 24 horas, e o teor de óleo foi determinado por extração com *soxhlet,* o método oficial da International Union for Pure and Applied Chemistry (IUPAC).

Em virtude do tamanho da semente, foi realizada uma adaptação no aparelho para analisar as sementes da mamoneira, pois o diâmetro máximo da semente admitido no aparelho era de 1 cm.

3.2.3.2 Procedimento 2 – Preparação de grãos para análise do teor de óleo (grãos secos):

As amostras de sementes que foram colhidas em cada tratamento, foram mantidas em câmara fria até o momento da análise. As sementes foram pesadas e colocadas na sonda para a realização da análise, usando a curva de calibração.

3.2.3.3 Técnicas e especificações dos equipamentos utilizados (RMN)

A técnica utilizada para medir o teor de óleo nas sementes foi o *spin-eco* e para medir a viscosidade do óleo foi usado o *CPMG (Carr Purcell Meiboom Gil)* para medida da relaxação transversal (T_2). Os gráficos de decaimentos obtidos foram ajustados, de forma monoexponencial, no Origin.

O magneto permanente utilizado foi de 217mT (freqüência de 9,5MHz para ^1H). A sonda do tipo "home-made" foi sintonizada em 9,5MHz para ^1H. O espectrômetro foi baseado em um sistema CAT-100 e o amplificador de potência utilizado foi o Tecmag, com pré-amplificador Miteq AU-1448.

3.2.4 Análise ultra-estrutural de células de mamoneira

Os espécimes coletados foram processados no Laboratório de Histopatologia e Biologia Estrutural de Plantas do CENA/USP, e visualizados nos equipamentos do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada a Agricultura, ESALQ/USP, conforme os procedimentos a seguir:

3.2.4.1 Preparo de espécime para Microscopia Eletrônica de Transmissão

No dia 9 de novembro de 2005, às 10:00, foram coletadas amostras do limbo de folhas novas com sintomas típicos da deficiência de boro (tratamento 0 mg L^{-1} de

B) e limbo de folhas novas do tratamento padrão (0,27 mg L^{-1} de B) para avaliação ultra-estrutural dos sintomas de deficiência. Na mesma ocasião, foram retiradas amostras de folhas velhas com clorose marginal, referente ao tratamento de toxicidade (5,4 mg L^{-1} de B), e limbo de folhas velhas do tratamento normal (0,27 mg L^{-1} de B), para estudar os efeitos de toxicidade de boro. A parte da folha amostrada foi a região entre lobos, entre as nervuras, com cortes de 2 x 4 mm.

As amostras de folhas foram imediatamente fixadas por 2 horas, a 4ºC, em solução de Karnovsky modificado: glutaraldeído a 2%, paraformaldeído a 2%, cloreto de cálcio 0,001 M, em tampão cacodilato de sódio 0,05 M, em pH 7,2. Após lavagens em tampão cacodilato de sódio 0,1M, foram pós-fixadas por 1 hora em tetróxido de ósmio a 1% em tampão cacodilato de sódio 0,1M.

Após rápidas lavagens em solução salina 0,9%, as amostras foram contrastadas em bloco com acetato de uranila a 2,5% em água à 4ºC (12h), desidratadas em séries crescentes de solução de acetona (25%, 50%, 75%, 90% e 100%) e incluídas em resina Spurr.

Através de um Ultramicrótomo Porter-Blum MT, utilizando-se navalha de diamante, foram obtidas secções ultrafinas, de 60 a 90nm de espessura e colocadas em telas de cobre de 300 mesh, recobertas com *formvar* e submetidas à dupla coloração, utilizando-se solução aquosa de acetato de uranila, e solução de citrato de chumbo.

Estes cortes ultrafinos foram examinados no Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada à Pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA – ESALQ/USP) microscópio eletrônico Zeiss EM-900 operando a 50 kV.

3.2.4.2 Preparo de espécime para Microscopia Eletrônica de Varredura

Foram coletadas amostras de pecíolos de folhas novas com sintomas de deficiência (tratamento A: 0 mg L^{-1} de B) e sem sintomas (E: 0,27 mg L^{-1} de B) para avaliação ultra-estrutural dos sintomas de deficiência de boro.

Não foram notadas diferenças em pecíolos de folhas velhas submetidas aos tratamentos mais elevados de boro e por isso não foram analisados.

As amostras foram fixadas em Glutaraldeído a 2% em Tampão Cacodilato 0,2M durante 2 horas a 4°C. Estes espécimes foram submetidos a lavagens sucessivas em Tampão cacodilato 0,1M e desidratadas com séries crescentes de solução de etanol (25%, 50%, 75%, 90% e 100%). A seguir os espécimes foram submetidas à secagem ao ponto crítico através de CO_2 líquido, montadas em “stubs” e metalizadas em ouro com um “Sputter Coater”.

As observações foram realizadas no Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada à Pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA – ESALQ/USP) feitas no microscópio eletrônico LEO435-VP-Zeiss, operando a 20 kV.

3.2.5 Colheita e preparo do material para pesagem e análise química de B total

As plantas foram colhidas, lavadas, pesadas e separadas conforme o procedimento a seguir:

3.2.5.1 Raiz

As raízes foram separadas do caule e submersas em recipientes contendo água desionizada, sucessivamente, em 3 séries, escorridas e secas ao ar. O

material foi pesado no dia seguinte e considerou-se como peso de matéria fresca. Foi amostrada uma parte, pesada e submetido à estufa 65°C até peso constante. Calculou-se a umidade do material e avaliou-se a produção de matéria seca total a partir da produção de matéria fresca. A parte amostrada foi submetida à análise química.

3.2.5.2 Caule

O caule foi separado da raiz no colo, das inserções foliares e pesado, obtendo a massa de matéria fresca. A amostra do caule foi segmentada em 3 pedaços cilíndricos de 2cm e eqüidistantes a 15cm a partir da primeira inserção da raiz, lavados e secos em estufa 65°C até peso constante. Calculou-se a umidade do material e estimou-se a produção de matéria seca a partir da produção de matéria fresca do caule. As partes amostradas (cilindros) foram secas, moídas e submetidas à análise química.

3.2.5.3 Folhas

As folhas foram lavadas em água desionizada e separadas em limbo e pecíolo, separando as folhas diagnósticas. Cada parte foi pesada separadamente obtendo a massa de matéria fresca total de limbo e pecíolo. Após a pesagem, cada material foi picado, homogeneizado e recolhido uma amostra para secagem em estufa. Calculou-se a umidade do material e estimou-se a produção de matéria seca de limbo e pecíolo. As amostras foram secas, moídas e submetidas à análise química.

3.2.5.4 Racemo, frutos e sementes

Os racemos primários foram coletados quando a maior parte das plantas iniciaram a emissão do racemo secundário. Foram submetidos à secagem ao ar e depois a 35°C, até a maturação dos frutos. Estes foram abertos e separados da

semente, e submetidos à estufa 65°C até peso constante. As amostras de sementes foram imersas em nitrogênio líquido e maceradas até a obtenção de pó bem fino e acondicionados em sacos plásticos até a análise química.

3.2.6 Análise química do boro total das amostras

O teor total de B foi determinado no Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas do CENA-USP, obtendo-se o extrato por via seca e a quantificação foi realizada pelo método da Azometina-H, conforme Malavolta et al. (1997). Transferiu-se 0,2 g de amostra seca (em estufa a 65°C) para cadinho de porcelana, incinerando na mufla a 550°C por 3 horas. Após o esfriamento da amostra adicionou-se 10 mL de solução de HCl 0,1 N, sobre as cinzas. Após manter o extrato em repouso, retirou-se uma alíquota de 2 mL do sobrenadante, adicionou-se 2 mL de solução tampão acetato (ácido acético glacial) , 2 mL de azometina H, com sucessivas agitações. Após 30 minutos transferiu-se as soluções para tubos colorimétricos e procederam-se às leituras com filtro azul (420 nm), acertando o zero no espectrofotômetro de emissão atômica com a solução digestora de HCl 0,1N utilizada. A curva padrão utilizada foi obtida através da dissolução de H_3BO_3 P.A. em água deionizada.

3.3 Experimento 2 - Absorção, Transporte e Redistribuição do boro na mamoneira

Neste experimento as soluções estoque de ácido bórico “enriquecidas” foram obtidas através da dissolução de ácido bórico (IEN-CNEN) enriquecido a 92,6% ^{10}B (análise foi de 84,5% ^{10}B). E a solução estoque de ácido bórico “não enriquecido” foi obtida através da dissolução de ácido bórico P.A.

No dia 27 de dezembro de 2005, sementes de mamoneira do cultivar Savana foram semeadas em tubetes plásticos e o transplante das mudas para os recipientes contendo solução nutritiva com 20% da concentração inicial e 0,27 mg L^{-1} de B foi realizado no dia 5 de janeiro de 2006. No dia 12 de janeiro foi realizada a troca da solução nutritiva por outra a 50% e 0,27 mg L^{-1} de B. No dia 26 de janeiro, as plantas receberam solução nutritiva completa e posteriormente (dia 09 de fevereiro de 2006) os tratamentos receberam doses e fontes de boro conforme a figura 1 e o delineamento experimental descrito a seguir.

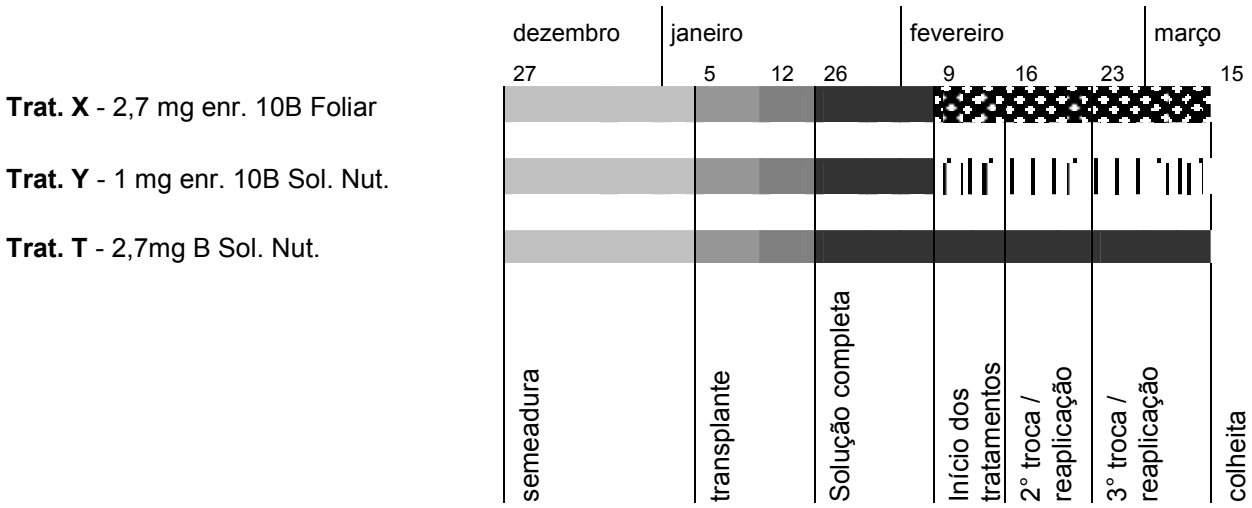

Figura 1. Cronograma de procedimentos do experimento 2.

3.3.1 Delineamento experimental

Os tratamentos tiveram início no dia 9 de fevereiro de 2006 até a colheita no dia 16 de março do mesmo ano, com o delineamento experimental de blocos ao acaso com 3 tratamentos e 3 repetições:

X- 3 Aplicações foliares de ácido bórico enriquecido a 84,5% ^{10}B, total de 2,7 mg B por aplicação, por planta.

Y- 3 Aplicações na solução nutritiva de ácido bórico enriquecido a 68,7% ^{10}B com aplicação total de 1 mg B por aplicação, por planta;

T- 3 Aplicações na solução nutritiva de ácido bórico P.A., total de 2,7 mg L^{-1} de B por aplicação, por planta.

A cada 4 semanas as plantas foram trocadas de lugar entre os blocos, de modo a diminuir a diferença de luminosidade, vento etc.

3.3.1.1 Procedimentos do Tratamento X

A solução nutritiva foi trocada por outra nova, sem boro. Nos limbos foliares foram aplicados 7 mL da solução estoque de ácido bórico (17% B), com concentração de 0,2 g L^{-1} de B, enriquecido isotopicamente a 84,5% ^{10}B. Este volume foi aplicado através de um esborrifador, uniformemente em todos os limbos foliares, a 5 cm de distância, divididos em dois dias consecutivos, pela manhã. A inflorescência e a colo da planta foi envolto em tecido absorvente e coberto por saco plástico, evitando o contato do produto com a região do racemo e o escorrimento do mesmo na solução nutritiva. Este procedimento foi realizado por mais 2 vezes, a cada 2 semanas, resultando numa aplicação foliar total de 2,7 mg de B por planta/aplicação.

3.3.1.2 Procedimentos do Tratamento Y

A solução nutritiva referente a este tratamento foi trocada por outra com aplicação de ácido bórico enriquecido isotopicamente a 68,7% ^{10}B, aplicando-se 0,1 mg L^{-1} de B na solução nutritiva por troca. As mesmas trocas ocorreram por mais duas vezes, a cada 2 semanas.

3.3.1.3 Procedimentos do Tratamento T

A solução nutritiva foi trocada e aplicou-se ácido bórico (17% B), não enriquecido, para obter a concentração final de 0,27 mg L^{-1} de B na solução nutritiva. As mesmas trocas foram realizadas por mais 2 vezes, a cada 2 semanas, resultando numa aplicação total via solução nutritiva de 2,7 mg de B por planta/troca.

3.3.2 Coleta e determinação da discriminação isotópica

As plantas dos 3 tratamentos foram colhidas ao mesmo tempo (15/03/2006), separadas em folhas (limbo e pecíolo), caule, raquis, fruto, semente e raiz, da mesma forma que a descrita no item 3.2.5. Os materiais secos foram moídos em moinho tipo faca e passados em peneira 10 mesh. A partir deste material foi transferido 0,2 g em cadinho de porcelana, para incineração em mufla a 550°C por mínimo de 6 horas. Após o resfriamento do incinerado, foi adicionado 10 mL de solução de HCl filtrado em água purificada Milli-Q com condutividade de 18,2 MΩcm. Após a decantação do incinerado, foi retirado 500µL do sobrenadante e adicionado 4500µL do ácido digestor. A discriminação isotópica $^{11}B/^{10}B$ foi determinada no Laboratório de Análises e Referência em Amostras Ambientais e Fertilizantes (LARAFERT) do CENA/USP com o aparelho ICP-MS conforme a metodologia utilizada por Bellato (1999) e Boaretto (2006).

Foram amostradas as folhas das plantas submetidas à aplicação foliar, além das folhas novas, caule, raízes, frutos e sementes que foram analisadas para quantificação do ^{10}B redistribuído para estes órgãos.

A partir dos resultados da razão isotópica, calculou-se a porcentagem de B na planta proveniente da solução aplicada nas folhas ($\%B_{ppf}$), pela equação (I):

$$\% B_{ppf} = [(\%^{10}B_{amostra} - \%^{10}B_{natural}) / (\%^{10}B_{fert.} - \%^{10}B_{natural})] .100 \quad (I)$$

$\%^{10}B_{amostra}$ = $\%^{10}B$ da amostra; $\%^{10}B_{natural}$ = $\%^{10}B$ de ocorrência natural (média encontrada nas plantas do tratamento T); $\%^{10}B_{fert.}$ = $\%^{10}B$ proveniente do ácido bórico empregado no preparo da solução para aplicação foliar ou na solução nutritiva, conforme o tratamento.

Para o cálculo da concentração do B na planta proveniente do fertilizante utilizou-se da equação II seguinte:

$$mg\ kg^{-1}\ B_{ppf} = (\%B_{ppf} .\ mg\ kg^{-1}\ de\ B) / 100 \quad (II)$$

3.4 Interpretação dos resultados

Através dos resultados obtidos no primeiro experimento, os teores médios de boro foram correlacionados com a produção de matéria seca, teor e viscosidade do óleo, fotossíntese e transpiração, conforme a parte da planta analisada e discutidos os fatores que podem ter induzido os efeitos. As médias foram comparadas através do Teste de Tukey, significância de 5%, através do pacote estatístico SAS 8.02 (SAS Institute Inc.) e as correlações realizadas no Microsoft Excel 2002.

As diferenças ultra-estruturais de microscopia eletrônica de transmissão e varredura foram discutidas através de fotomicrografias em análise comparativa (mesma escala, tipo de tecido, momento de coleta, método de preparo e análise).

Em relação aos resultados obtidos no 2° experimento, as concentrações de boro total e $\%^{10}B$ nos tecidos de cada planta foram compiladas em uma tabela de forma que fosse possível observar a % de boro proveniente do órgão que recebeu a solução de ácido bórico enriquecido. Foi determinado a média, o desvio padrão, e estimou-se a quantidade de boro total presente na planta, bem como a contribuição do boro proveniente da aplicação dos fertilizantes enriquecidos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento 1 - Efeito de doses de boro

4.1.1 Sintomas morfológicos de toxicidade

Os sintomas típicos de toxicidade foram notados a partir do 15° dia após o transplante, no tratamento 5,4 mg L^{-1} B, apresentando uma clorose nos bordos das folhas primordiais. Neste tratamento, a clorose ocorreu durante todo o experimento nas folhas mais velhas, pouco ou ausentes nas folhas mais novas, e não teve efeito no crescimento geral, nem mesmo na produção de frutos e sementes. Este fato deve-se ao comportamento do boro na planta que é transportado pelo fluxo transpiratório pelo xilema, até as folhas, complexando-se na fração péctica da parede celular (apoplasto). Nas folhas velhas, a transpiração acumulada é maior, explicando o acúmulo de boro nestes órgãos (Furlani, 2004). No entanto, Matoh e Kobayashi (2002) constataram que, em condições de alto suprimento do nutriente, não ocorre aumento de boro presente na parede celular. Possivelmente este micronutriente pode formar inúmeros compostos biológicos também no citoplasma, através da formação de complexos de B (ácido bórico) com açúcares, fenóis, ácidos orgânicos e polímeros (Dembitsky et al. 2002).

4.1.2 Sintomas morfológicos de deficiência

Os sintomas típicos de deficiência foram notados posteriormente, iniciando-se por volta dos 40 dias após o transplante, no tratamento sem aplicação de B (onde foi determinado 50 µg L^{-1} B na água da casa de vegetação). As folhas novas apresentaram limbo deformado e espesso, evoluindo à necrose nos bordos foliares (Figura 2). Estes sintomas em folhas novas indicam que a redistribuição de boro nesta espécie é provavelmente baixa ou restrita, o mesmo não ocorrendo em espécies que produzem certos polióis como o sorbitol, manitol e dulcitol (Brown; Hu, 1996; Hu et al. 1997) que formam complexos com este micronutriente.

Os pecíolos de folhas novas, referentes aos tratamentos sem aplicação de boro, mostraram-se curtos, endurecidos e espessos (Figura 3). Quando estes foram seccionados no sentido longitudinal, apresentaram-se irregulares e com manchas escuras. Conforme Marschner (1995), o boro forma um complexo *cis-diol* com açúcares e fenóis. A deficiência de boro gera um acúmulo de fenóis, induzindo o aumento da ação de polifenoloxidases, levando à produção de compostos intermediários reativos, como quinonas e radicais superóxidos, que destroem as membranas lipídicas, podendo esta ser a causa das manchas escuras observadas.

Venter e Currier (1977) e Loué (1993) defendem a hipótese de que em condições de deficiência, ocorre uma redução no transporte de sacarose das folhas para outras partes das plantas, pela maior produção de calose, obstruindo o transporte de fotoassimilados. Nenhuma das plantas do tratamento com ausência de boro chegou a produzir racemo ou frutos (figura 4), demonstrando a importância deste micronutriente na produção de sementes e conseqüentemente na produção de óleo de mamona, que é a principal matéria prima da ricinocultura.

Segundo Coke e Whittington (1968), a deficiência de boro interfere nos níveis de AIA, fenóis e quinonas tóxicas, causando a perda de dominância apical, que resulta em superbrotamento lateral. O mesmo efeito foi identificado por Lange (2005). Entretanto, pode ser que os efeitos nos processos fisiológicos em que a ausência de boro esteja relacionada não ocorram de forma direta, mas que sejam efeitos secundários, ou que Marschner (1995) caracteriza como “efeito cascata”.

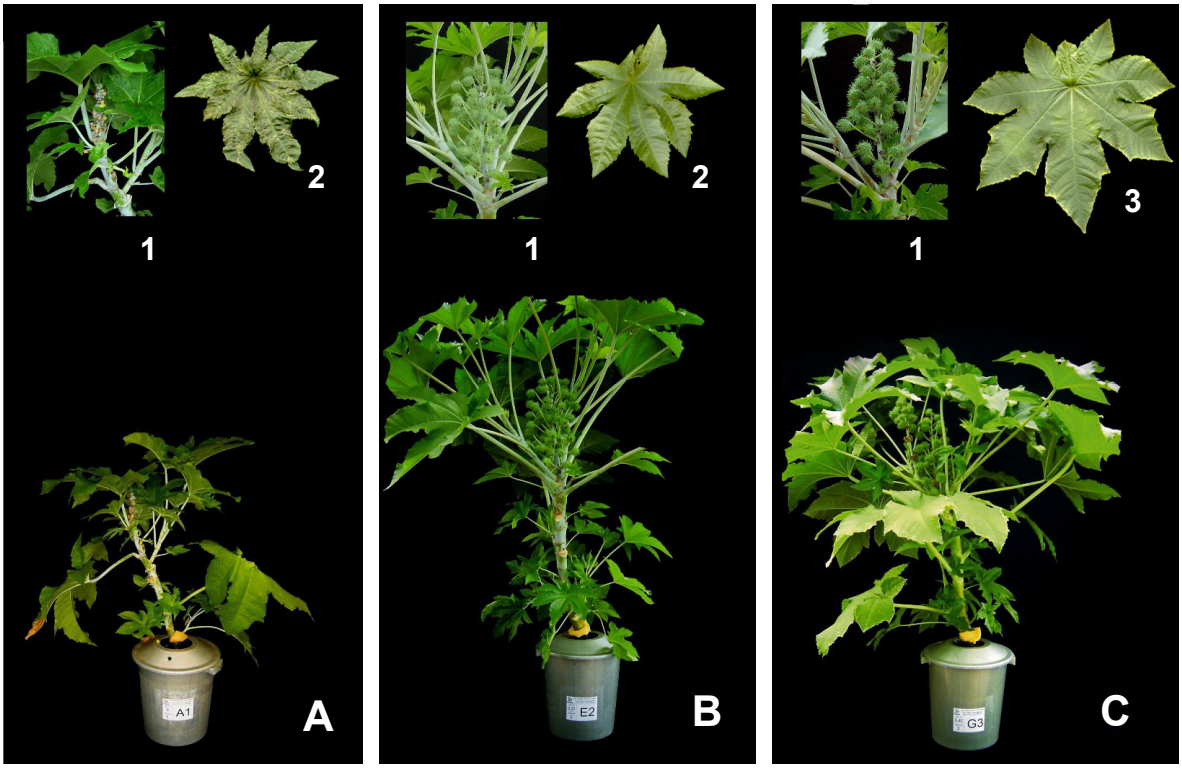

Figura 2. Sintomas: A - deficiência de boro; B - normal; C - toxicidade de boro. 1 – Racemo primário; 2 – Folha nova; 3 – Folha velha com clorose marginal. Plantas com 100 dias após ínicio dos tratamentos.

Figura 3. A – Secção de brotações laterais; B- Secção de pecíolos de folhas jovens; 1- Tratamento sem aplicação de boro, 2- Tratamento com aplicação de 0,27 mg L^{-1} B.

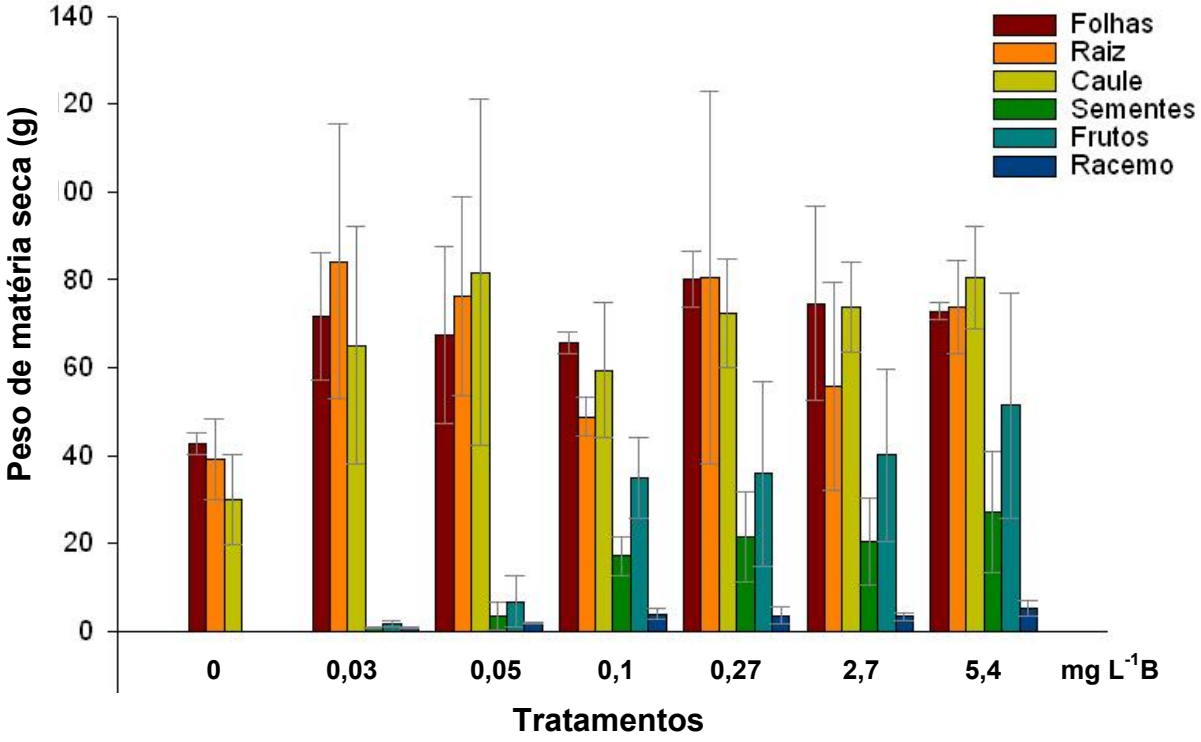

Figura 4. Produção de Matéria Seca dos tratamentos (valores médios dos tratamentos e o erro padrão da média).

4.1.3 Efeitos da deficiência e toxicidade de boro

4.1.3.1 Raiz

No momento da colheita, conforme a tabela 3 (pág. 57), não houve diferença significativa na produção de matéria seca mesmo que a concentração de B variasse entre os tratamentos. Dentre os resultados obtidos, não houve correlação entre a produção de matéria seca de raízes e o teor de boro. Entretanto, foi durante o período vegetativo (do transplante até os 60 dias após o início dos tratamentos), que se notaram diferenças de desenvolvimento radicular. Em plantas com adequado suprimento de boro, o crescimento radicular foi mais ativo no período vegetativo (figura 5), mesmo ocorrendo condições de toxicidade.

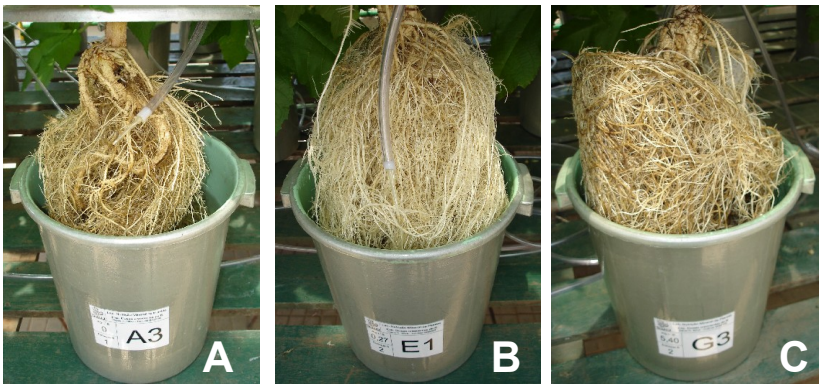

Figura 5. A - Sistema radicular de planta com sintoma de deficiência de boro (tratamento 0 mg L^{-1} de B). B – planta sob tratamento de 0,27 mg L^{-1} de B. C- planta sob tratamento de 5,4 mg L^{-1} de B. Plantas com 70 dias após o ínicio dos tratamentos.

Acredita-se que, pelo fato da colheita ter sido realizada após a emissão do racemo primário, posterior ao momento da constatação do efeito, as raízes das plantas referentes ao tratamento 0,27 mg L^{-1} de B tiveram seu crescimento limitado

pelo volume do recipiente, e que os resultados poderiam ser diferentes se fossem obtidos o peso de matéria seca de raízes ainda na fase vegetativa. Este fato pode justificar a baixa correlação entre a produção de matéria seca e concentração de B na raiz (figura 6).

De acordo Marschner (1995), a deficiência de boro impede o alongamento de raízes, tornando mais grossas e curtas. Outra evidência da importância do boro no desenvolvimento radicular foi relatado por Lenoble et al. (1993). Estes autores observaram que os sintomas de toxidez por alumínio e a deficiência por boro se apresentam primeiramente como inibição no crescimento radicular. Tendo em vista estes sintomas similares, os autores sustentam a hipótese de que a toxidez por alumínio poderia ser agravada pela deficiência de boro.

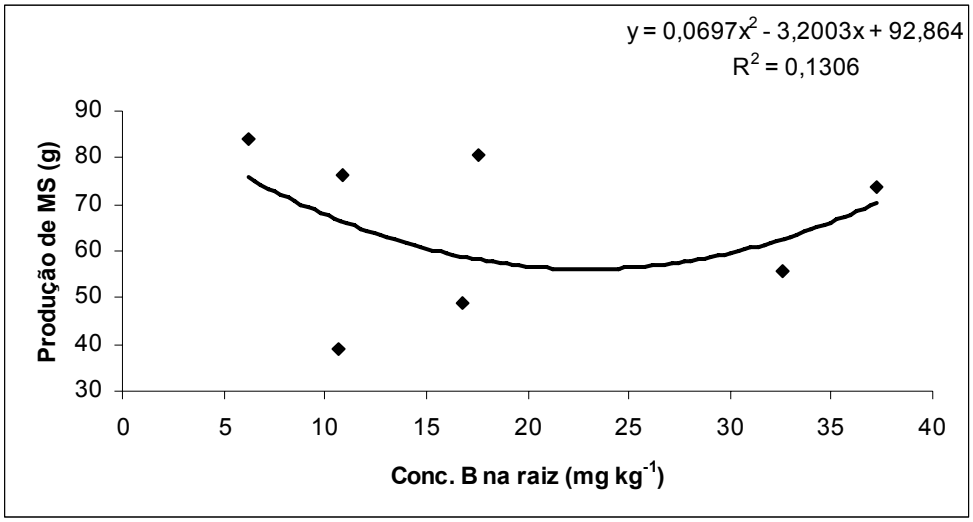

Figura 6. Relação entre a produção de matéria seca de raiz e concentração de B (mg kg^{-1})

Tabela 3. Produção média de matéria seca (MS) e a concentração média de B na raiz

Tratamento	--- mg L^{-1} B ---	Peso MS raiz --- g ---	s(m)	B raiz --- mg kg^{-1}---	s(m)
A	0,00	39,2 a	*9,1*	10,7 ab	*1,1*
B	0,03	84,1a	*31,3*	6,2 a	*1,0*
C	0,05	76,2 a	*22,6*	10,9 ab	*4,8*
D	0,10	48,9 a	*4,3*	16,8 abc	*1,7*
E	0,27	80,5 a	*42,4*	17,6 abc	*1,0*
F	2,70	55,8 a	*23,8*	32,6 cb	*9,4*
G	5,40	73,8 a	*10,7*	37,3 c	*17,0*

s (m) é o desvio padrão da média. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

4.1.3.2 Caule

Constata-se na Tabela 4 que a média da produção de peso de matéria seca no tratamento sem aplicação de boro é menor que a produção dos demais tratamentos e tende a aumentar com aplicação deste nutriente (figura 7). Concentrações de boro superiores a 10,2 mg kg^{-1} B no caule se mostraram suficientes, pois não houve diferença significativa entre as produções de peso de matéria seca acima deste. Além disso, em concentrações elevadas, tratamentos de 2,7 e 5,4 mg L^{-1} B, que correspondem a 10 e 20x a concentração padrão de boro na solução nutritiva, não foram suficientes para elevar a concentração deste micronutriente no caule a ponto de causar sintomas de toxicidade ou mesmo para alterar a produção de matéria seca. Tal fato pode ser explicado pelo transporte de boro via fluxo de massa, que termina no limbo foliar, principal órgão de transpiração. O resultado é condizente com a afirmação de Papadakis et al. (2004) que sugerem a imobilidade do boro no floema como um mecanismo de defesa das plantas ao excesso deste micronutriente existindo, portanto, a possibilidade de um bom crescimento vegetativo.

Em relação aos os sintomas de deficiência de boro, um dos mais pronunciados ocorreu no ápice caulinar, próximo ao racemo, apresentando deformação e necrose. As brotações laterais do tratamento sem aplicação de B também apresentaram estes sintomas. Deformações e necroses desta natureza podem ser decorrentes da ação de radicais de superóxidos que são acumulados sob condições de deficiência de boro, que danificam as membranas que são de natureza lipídica (Furlani, 2004). Entretanto, de acordo com Marschner (1997), estas deformações não são efeitos diretos da deficiência de boro, pois os primeiros sintomas ocorrem na parede celular primária.

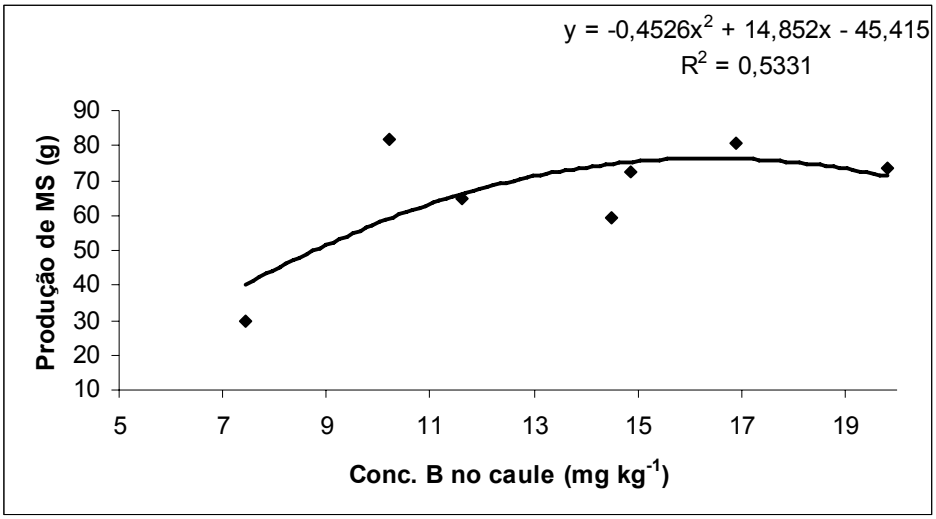

Figura 7. Relação entre a produção de matéria seca de caule e a concentração de B (mg kg^{-1})

Tabela 4. Produção média de matéria seca (MS) e a concentração média de B no caule

	Tratamento --- mg L^{-1} B ---	Peso MS caule --- g ---	s(m)	B caule --- mg kg^{-1} ---	s(m)
A	0,00	29,9 a	*10,3*	7,45 b	*0,1*
B	0,03	65,0 a	*27,1*	11,6 ab	*1,4*
C	0,05	81,7a	*39,4*	10,2 ab	*5,45*
D	0,10	59,4 a	*15,4*	14,5 ab	*2,9*
E	0,27	72,3 a	*12,4*	14,85 ab	*5,95*
F	2,70	73,7 a	*10,2*	19,8 a	*1,85*
G	5,40	80,6 a	*11,6*	16,9 ab	*4,5*

s(m) é o desvio padrão da média. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

4.1.3.3 Folhas (limbo e pecíolo)

Inicialmente as folhas velhas mostraram a toxicidade de boro e posteriormente, as folhas novas foram os órgãos que mostraram os sintomas de deficiência.

Os sintomas típicos de toxicidade (clorose marginal e pontuações amareladas) foram os primeiros sinais, constatados nos tratamentos G e posteriormente no F, logo na fase inicial do experimento. Entretanto, mesmo que os sinais de toxicidade tenham ocorrido rapidamente, a produção de matéria seca total do limbo foliar ou pecíolo não foi afetada.

Os resultados confirmaram que o limbo foliar foi o órgão que mais acumulou boro, da mesma forma que ocorre na maioria das espécies (Shelp, 1988; Bellaloui; Brown, 1998 e Papadakis et al. 2003), pois o boro é transportado via fluxo transpiratório até a folha e se redistribui pouco na planta (baixa mobilidade no floema).

As produções de matéria seca total de limbo foliar e pecíolo foram afetadas pela deficiência de boro, existindo correlação entre a produção de matéria seca de folhas e a concentração média de B no limbo (figura 8) e também no pecíolo (figura 9). Conforme a tabela 5, a produção foi notavelmente menor no tratamento A que não recebeu aplicação de boro. Comparando as concentrações médias de B entre as tabelas 5 e 6, observa-se que o boro tende a acumular mais no limbo do que pecíolo foliar.

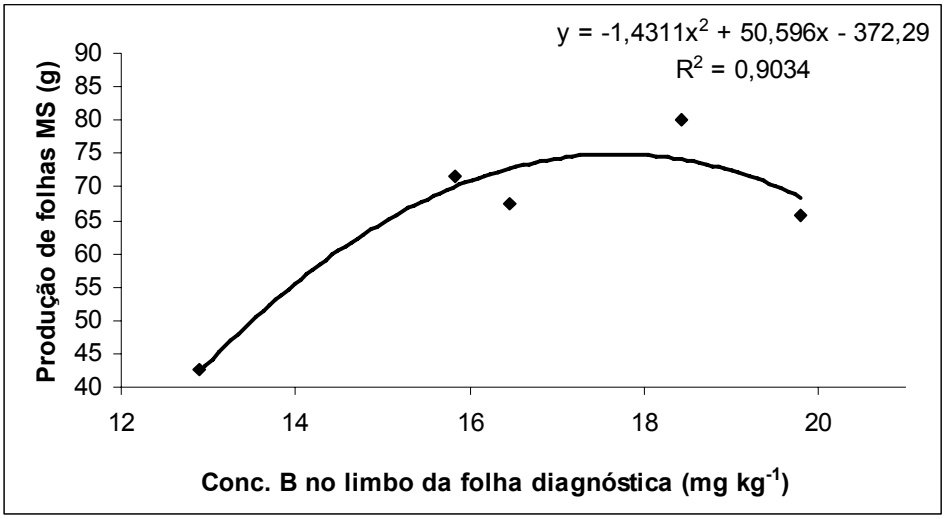

Figura 8. Relação entre a média produção de matéria seca (MS) de folhas e a concentração média de B no limbo da folha diagnóstica

Tabela 5. Produção média de matéria seca de folhas (limbo+pecíolo) e a concentração média de B no limbo foliar

Tratamento	--- mg L^{-1} B ---	peso MS folhas --- g ---	s(m)	B limbo folha diag. --- mg kg-1 ---	s(m)
A	0,00	42,7 b	*2,38*	12,9 a	*2,31*
B	0,03	71,5 ab	*20,56*	15,8 a	*1,35*
C	0,05	67,4 ab	*20,17*	16,5 a	*1,97*
D	0,10	65,8 ab	*2,48*	19,8 a	*1,88*
E	0,27	80,2 a	*6,53*	18,4 a	*3,44*
F	2,70	74,6 ab	*22,05*	304,2 b	*93,88*
G	5,40	72,8 ab	*1,93*	506,2 c	*106,46*

s (m) é o desvio padrão da média. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

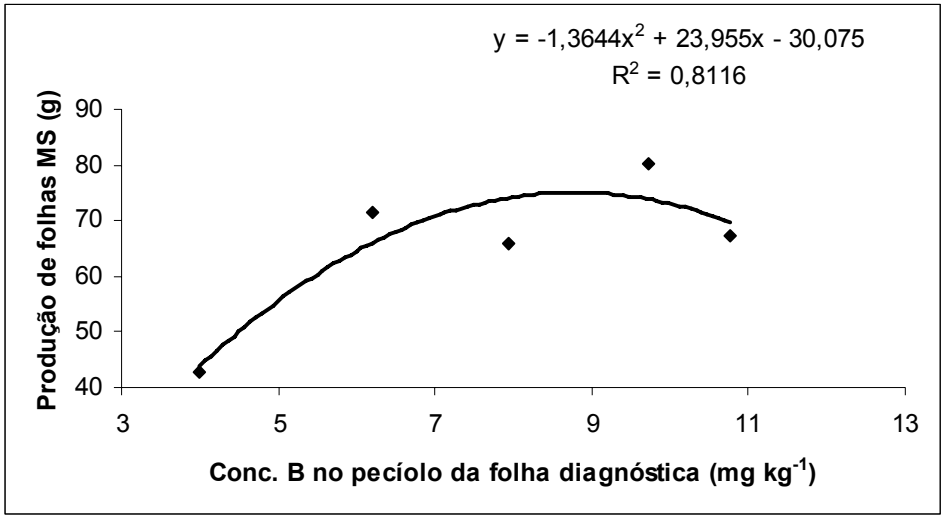

Figura 9. Relação entre a produção média de matéria seca (MS) e a concentração média de B no pecíolo (folha diagnóstica)

Tabela 6. Produção média de matéria seca de folhas (limbo+pecíolo) e a concentração média de B no pecíolo foliar (folha diagnóstica)

Tratamento	--- mg L^{-1} B ---	peso MS folhas --- g ---	s(m)	B pecíolo folha diag. --- mg kg^{-1}---	s(m)
A	0,00	42,7 b	*2,38*	4,0 a	*2,27*
B	0,03	71,5 ab	*20,56*	6,2 a	*1,03*
C	0,05	67,4 ab	*20,17*	10,8 abc	*6,63*
D	0,10	65,8 ab	*2,48*	7,9 ab	*1,14*
E	0,27	80,2 a	*6,53*	9,7 abc	*3,88*
F	2,70	74,6 ab	*22,05*	21,7 c	*2,58*
G	5,40	72,8 ab	*1,93*	19,5 bc	*6,26*

s(m) é o desvio padrão da média. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

4.1.3.4 Produção de sementes e frutos do racemo primário

A improdutividade da mamoneira foi a constatação mais evidente da deficiência de boro. A produção de frutos foi severamente prejudicada nas plantas submetidas às menores aplicações de boro (tratamentos A e B), demonstrando a importância deste micronutriente na fase reprodutiva. Durante a emissão do racemo, em algumas plantas do tratamento A, houve deformação e pouca produção de flores. No tratamento B e C, as plantas formaram a inflorescência, mas com queda das flores e abortamento dos frutos (figura 10).

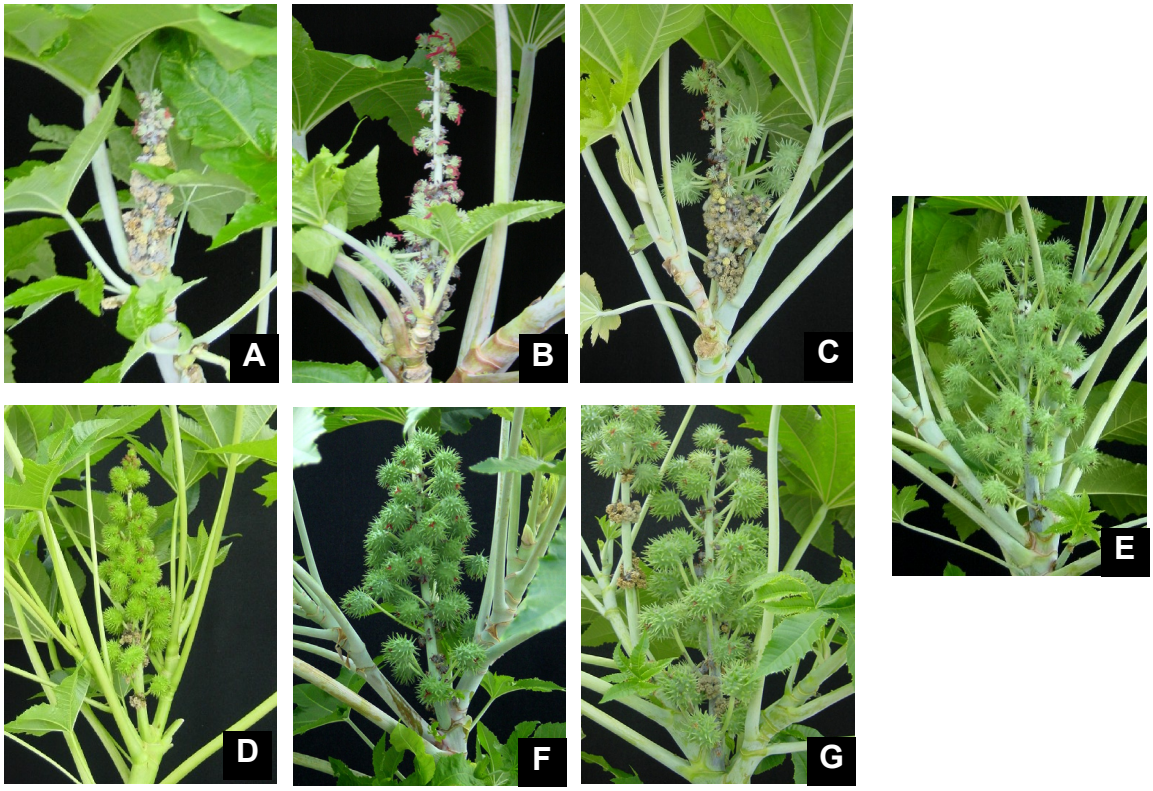

Figura 10. Efeito de doses de boro em solução nutritiva na produção de frutos. A= 0; B= 0,025; C= 0,05; D= 0,10; E= 0,27; F= 2,70; G= 5,40 mg L^{-1}B. Plantas com 110 dias após o início do experimento.

Constatam-se nas figuras 11 e 12 que existe correlação entre os teores de B e as produções de frutos e sementes. Observam-se ainda nas tabelas 7 e 8 que não houve produção de frutos ou sementes nos tratamentos sem aplicação de B. Os resultados corroboram com Loomis e Durst (1992) que observaram em muitas espécies que a exigência de boro para o crescimento reprodutivo é maior que no crescimento vegetativo. Blevins e Lukaszewski (1998) descrevem a sua importância no crescimento do tubo polínico, em conseqüência da fusão de vesículas do plasmalema e sua contínua secreção de material que constitui a parede celular primária dessa estrutura.

Os tratamentos com níveis tóxicos de 2,7 e 5,40 mg L^{-1} B não foram suficientes para limitar a produção da mamoneira. Especula-se que os sintomas de toxicidade na folha podem ocorrer sem que, necessariamente, ocorra uma queda na produção ou que a concentração de 5,40 mg L^{-1} B, não foi suficientemente alta a ponto de causar um efeito deletério na produção da mamoneira.

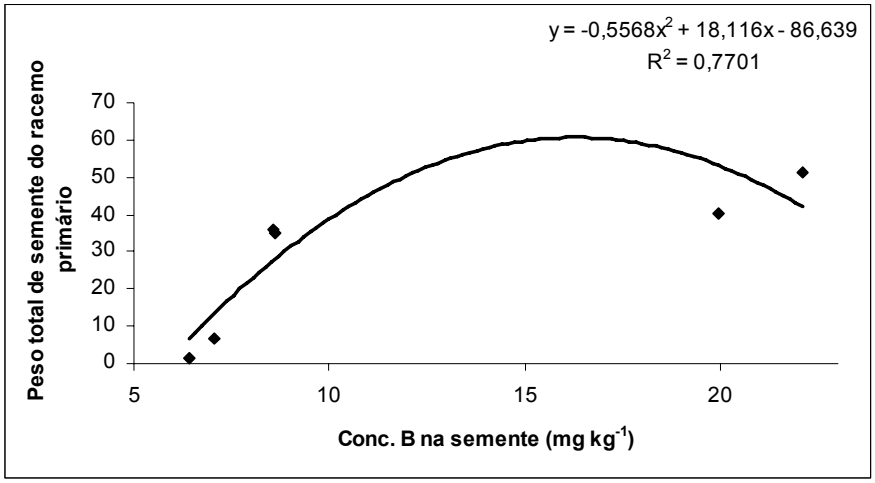

Figura 11. Relação entre o peso total de sementes (MS) e a concentração média de B nas sementes (racemo primário).

Tabela 7. Produção de sementes (g) e a concentração média de B nas sementes (racemo primário)

	Tratamento --- mg L^{-1} B ---	**peso total de sementes** --- g ---	**s(m)**	**B na semente** --- mg kg^{-1} ---	**s(m)**
A	0,00	*	*	*	*
B	0,03	1,6 b	*0,7*	6,4 ab	*0,0*
C	0,05	6,7 ab	*5,9*	7,0 ab	*4,1*
D	0,10	34,9 ab	*9,2*	8,6 b	*1,1*
E	0,27	35,8 ab	*21,2*	8,6 b	*3,6*
F	2,70	40,0 ab	*19,5*	19,9 c	*4,9*
G	5,40	51,5 a	*25,6*	22,1 c	*2,9*

s(m) é o desvio padrão da média. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.
***não houve produção de sementes.**

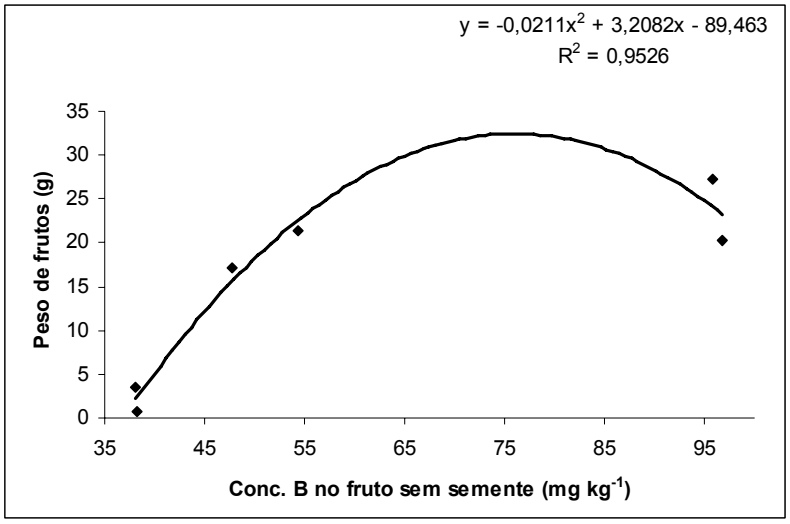

Figura 12. Relação entre a produção média de matéria seca de frutos e a concentração média de B no fruto (sem semente)

Tabela 8. Produção média de matéria seca de frutos e a concentração média de B no fruto (sem semente)

Tratamento	**--- mg L^{-1} B ---**	**Peso de frutos** **--- g ---**	**s(m)**	**B nos frutos** **--- mg kg^{-1} ---**	**s(m)**
A	0,00	*	*	*	*
B	0,03	0,7 a	*0,2*	38,28 b	*0,0*
C	0,05	3,5 a	*3,1*	38,13 b	*22,0*
D	0,10	17,1 a	*4,5*	47,80 b	*2,3*
E	0,27	21,4 bc	*10,3*	54,42 b	*6,2*
F	2,70	20,3 abc	*9,9*	96,84 c	*10,8*
G	5,40	27,3 c	*13,8*	95,87 c	*3,3*

s (m) é o desvio padrão da média. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.
***não houve produção de frutos.**

4.1.3.5 Teor e viscosidade de óleo das sementes

Conforme a tabela 9 o teor de boro variou na semente entre 6,4 e 22,1 mg kg^{-1}. No tratamento padrão as sementes apresentaram teor de 8,6 mg kg^{-1}.

O óleo de mamona compõe cerca de 45-50% do peso total da semente, sendo o principal componente o ácido ricinoléico. A formação deste ácido é realizada a partir dos ácidos oléico e linoléico, cuja biossíntese está associada com a fração microssomal no retículo endoplasmático (Gutierrez, 1979). Os fosfolipídios vegetais apresentam um alto teor de ácidos oléico, linoléico e α-linolênico, mantendo a fluidez da membrana, exercendo papel crítico em suas funções (Taiz, 2004).

Blevins e Lukaszewsky (1998) afirmam que existem alterações nas membranas em condições de deficiência de boro. Entretanto, observa-se na tabela 9 que não ocorreram alterações significativas nos teores de óleo entre tratamentos nas sementes produzidas. Na tabela 10 o valor de T_2 (viscosidade) também não diferiu entre as sementes produzidas, provavelmente por não ter havido alterações nas membranas capazes de modificar a composição do óleo de rícino. Entretanto, cabe ressaltar que em condições de deficiência de boro, não houve formação de fruto, demonstrando que os efeitos deletérios na floração precederam a formação de sementes.

Já em condições de toxicidade também não houve diferença significativa entre o teor ou viscosidade do óleo das sementes produzidas. Nas figuras 13 e 14 constata-se que não houve correlação entre os teores de boro e os atributos de teor e viscosidade de óleo. Contudo, a produção de óleo por hectare é afetada considerando que a deficiência de boro causa uma baixa produção de sementes.

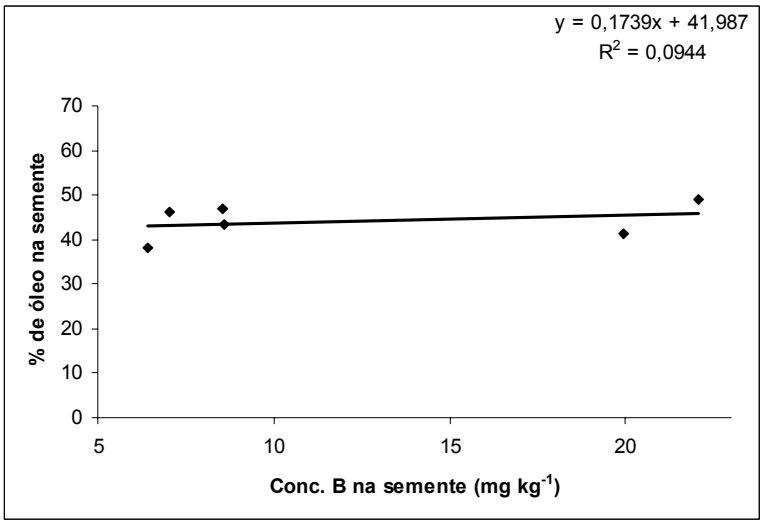

Figura 13. Relação entre o teor de óleo na semente (*in vivo*) e a concentração média de B

Tabela 9. Teor de óleo (*in vivo*) e a concentração média de B

Tratamento	--- mg L^{-1} B ---	óleo na semente --- % ---	s(m)	B na semente --- mg kg^{-1} ---	s(m)
A	0,00	*	*	*	*
B	0,03	38,1 a	*22,0*	6,4 ab	*0,0*
C	0,05	46,2 a	*27,3*	7,0 ab	*4,1*
D	0,10	43,3 a	*1,5*	8,6 b	*1,1*
E	0,27	46,8 a	*7,0*	8,6 b	*3,6*
F	2,70	41,3 a	*9,4*	19,9 c	*4,9*
G	5,40	48,8 a	*2,7*	22,1 c	*2,9*

s (m) é o desvio padrão da média. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.
***não houve produção de sementes.**

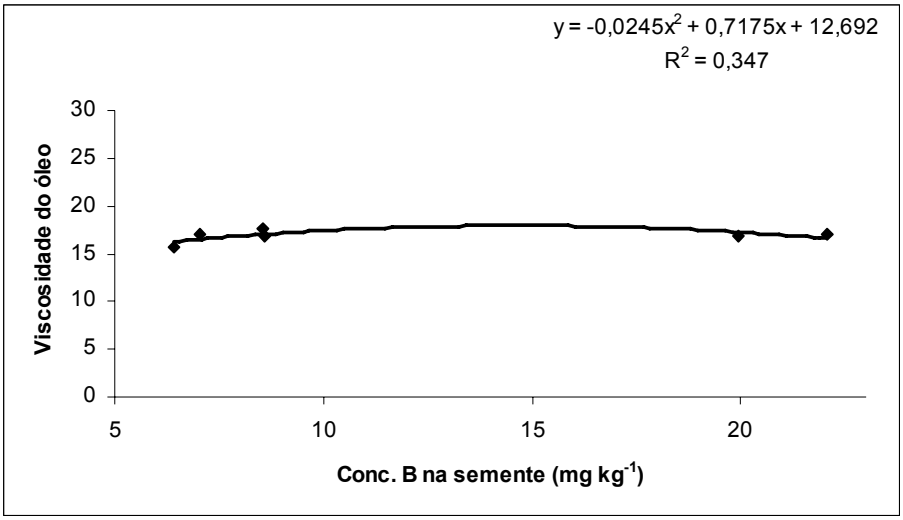

Figura 14. Relação entre os valores de T2 (viscosidade) do óleo e a concentração média de B da semente

Tabela 10. Viscosidade do óleo (*in vivo*) e a concentração média de B na semente

	Tratamento --- mg L^{-1} B ---	**Relaxação transversal** --- T_2 ---	**s(m)**	**B na semente** --- mg kg^{-1} ---	**s(m)**
A	0,00	*	*	*	*
B	0,03	15,6 b	*9,0*	6,4 ab	*0,0*
C	0,05	17,0 b	*9,8*	7,0 ab	*4,1*
D	0,10	16,9 b	*0,5*	8,6 b	*1,1*
E	0,27	17,5 b	*0,9*	8,6 b	*3,6*
F	2,70	16,8 b	*0,5*	19,9 c	*4,9*
G	5,40	17,0 b	*0,2*	22,1 c	*2,9*

s(m) é o desvio padrão da média. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.
***não houve produção de sementes.**

4.2 Taxa de Assimilação de CO_2 e Transpiração

4.2.1.1 Folha Nova

As folhas novas apresentaram concentrações de B na matéria seca que variaram entre 13,1 e 84,3 mg kg^{-1}. Foi constatado o sintoma típico da deficiência de boro (espessamento e deformação do limbo com evolução à necrose dos bordos foliares) no momento da medição da taxa de assimilação de CO_2 e transpiração.

Não houve diferença significativa entre os valores de taxa de assimilação de CO_2 por área foliar, mas os valores de transpiração foram significativamente menores nos tratamentos que receberam as menores doses de boro. Na figura 15, a correlação entre o teor de B e a taxa de assimilação de CO_2 é menos significativa que a correlação entre o teor de B e a transpiração (figura 16).

Estudos recentes, como o de Jiao et al. (2005), que estudou o efeito da deficiência de boro na fotossíntese em *Phaseolus aureus* Roxb, também encontrou resultados com a mesma tendência referentes à taxa de assimilação de CO_2 de plantas com deficiência e com suficiência de B.

Entretanto as folhas novas não apresentaram teores elevados de boro a ponto de causar sintomas de toxicidade, nem diferenças significativas entre taxas de transpiração e taxa de assimilação de CO_2.

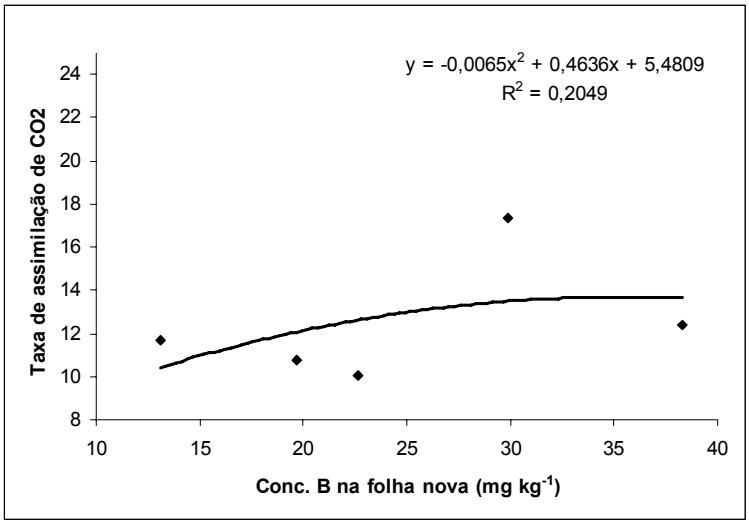

Figura 15. Relação entre a taxa de assimilação de CO_2 e a concentração média de B no tecido (folha nova)

Tabela 11. Taxa fotossintética e a respectiva concentração média de B no tecido (folha nova).

Tratamento	**--- mg L^{-1} B ---**	**Assimilação** **µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}**	**s(m)**	**B folha nova** **---mg kg^{-1}---**	**s(m)**
A	0,00	11,7 a	*2,5*	13,1 a	*1,0*
B	0,03	10,8 a	*10,4*	19,7 ab	*6,6*
C	0,05	10,1 a	*5,5*	22,7 ab	*5,9*
D	0,10	12,4 a	*3,3*	38,3 ab	*14,8*
E	0,27	17,3 a	*1,5*	29,9 ab	*5,1*
F	2,70	12,8 a	*4,5*	35,9 b	*5,1*
G	5,40	13,6 a	*3,7*	84,3 c	*5,9*

s(m) é o desvio padrão da média. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

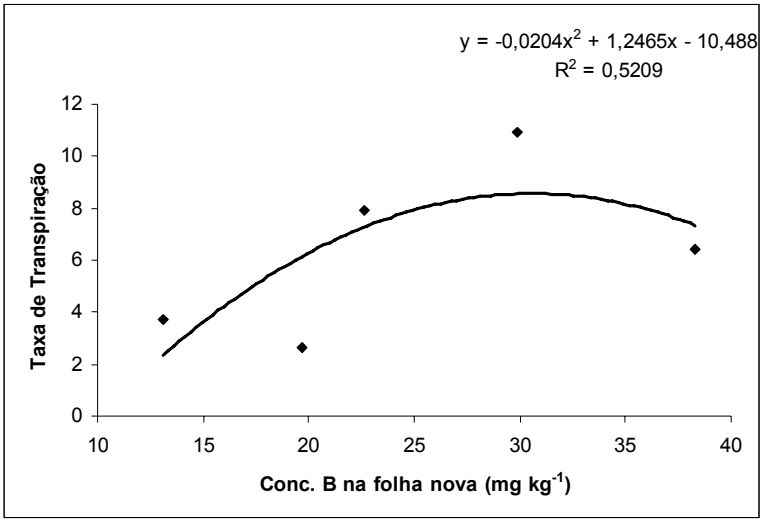

Figura 16. Relação entre a taxa transpiratória e a concentração média de B no tecido (folha nova)

Tabela 12. Taxa transpiratória e a respectiva concentração média de B no tecido (folha nova).

Tratamento	--- mg L^{-1} B ---	Transpiração mmol H_2O m^{-2} s^{-1}	s(m)	B folha nova ---mg kg^{-1}---	s(m)
A	0,00	3,7 ab	*0,7*	13,1 a	*1,0*
B	0,03	2,7 a	*3,0*	19,7 ab	*6,6*
C	0,05	7,9 bc	*3,7*	22,7 ab	*5,9*
D	0,10	6,4 abc	*1,9*	38,3 ab	*14,8*
E	0,27	10,9 c	*1,5*	29,9 ab	*5,1*
F	2,70	8,1 bc	*1,5*	35,9 b	*5,1*
G	5,40	9,1 c	*3,3*	84,3 c	*5,9*

s (m) é o desvio padrão da média. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

4.2.1.2 Folha diagnóstica

As folhas da mamoneira, indicadas para o diagnóstico do estado nutricional, conforme o critério de folha diagnóstica citado por Malavolta et al. (1997), apresentaram concentrações de B na matéria seca que variaram entre 15,8 e 290,8 mg kg^{-1} B.

Na tabela 13, constata-se que a taxa de assimilação de CO_2 por área foliar foi menor, embora não significativo, nos tratamentos com as menores doses de B aplicado, com boa correlação entre estes valores (Figura 17). Na tabela 14, observa-se que as folhas diagnósticas dos tratamentos A, B e C apresentam teores de boro muito próximos entre si e taxas de transpiração que apresentam uma baixa correlação (figura 18).

Os sintomas típicos de deficiência de boro nestas folhas ocorreram de forma menos acentuada quando comparadas às folhas novas, através do encarquilhamento dos bordos foliares, sem necrose, embora notados apenas nos tratamentos A e B. Ainda comparando os resultados da folha diagnóstica com as folhas novas, os valores de transpiração obtidos são equivalentes, e os valores de taxa de assimilação de CO_2 foram notavelmente maiores.

Estes valores corroboram com aqueles obtidos por Dai et al. (1992) em um ensaio comparativo entre mamoneira, milho e tabaco em diferentes condições de déficit de pressão de vapor, encontrando valores de assimilação de 30 a 10 µmol m^{-2} s^{-1} de CO_2. Neste trabalho a fotossíntese líquida realizada pela mamoneira foi superior ao milho em condições de alto déficit de pressão de vapor. Foi constatado que a folha da mamoneira possui maior quantidade de clorofila e ribulose-1,5-biphosfatase carboxilase/oxigenase que o milho.

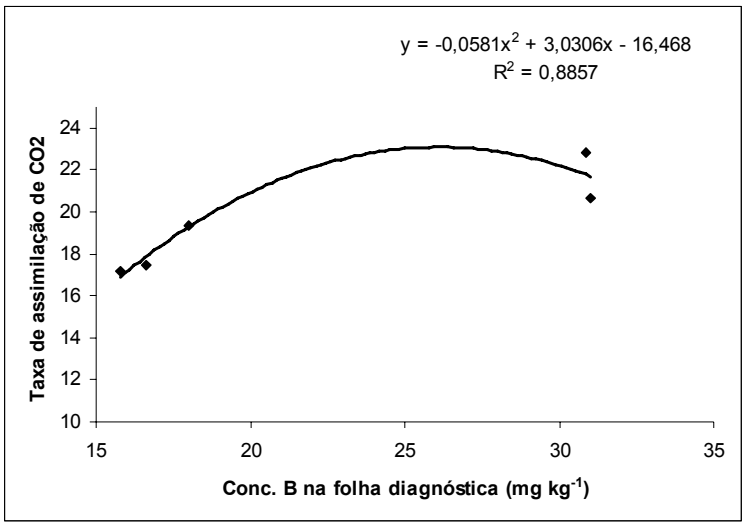

Figura 17. Relação entre a taxa de assimilação de CO2 e a concentração média de B no tecido (folha diagnóstica)

Tabela 13. Taxa de assimilação de CO_2 e a respectiva concentração média de B no tecido (folha diagnóstica)

Tratamento	**--- mg L^{-1} B ---**	**Assimilação** **µmol CO2 m^{-2} s^{-1}**	**s(m)**	**B folha diagnóstica** **--- mg kg^{-1}---**	**s(m)**
A	0,00	17,2 a	*8,9*	15,8 a	*1,3*
B	0,03	17,5 a	*9,8*	16,6 a	*1,6*
C	0,05	19,4 a	*2,5*	18 a	*5,9*
D	0,10	20,6 a	*4,6*	31 a	*6,8*
E	0,27	22,8 a	*4,9*	30,9 a	*2,2*
F	2,70	21,5 a	*3,6*	138,3 b	*17,6*
G	5,40	20,0 a	*5,4*	290,8 c	*54,7*

s(m) é o desvio padrão da média. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

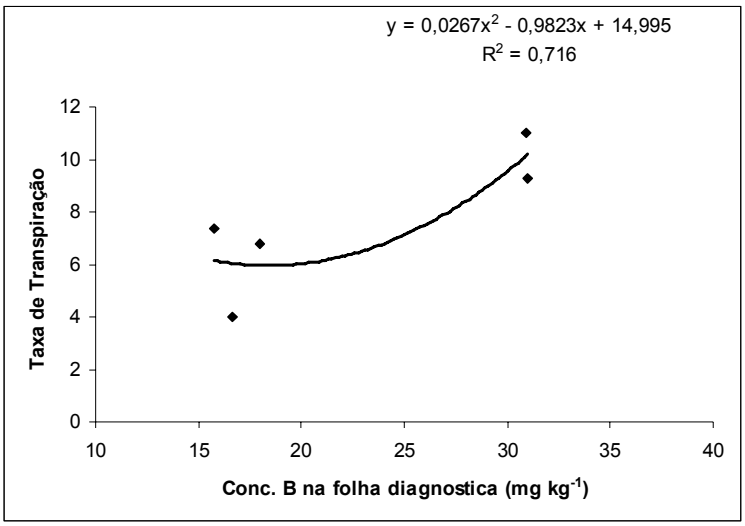

Figura 18. Relação entre a taxa transpiratória e a concentração média de B no tecido (folha diagnóstica)

Tabela 14. Taxa transpiratória e a respectiva concentração média de B no tecido (folha diagnóstica)

Tratamento	**--- mg L^{-1} B ---**	**Transpiração** **mmol H_2O m^{-2} s^{-1}**	**s(m)**	**B na folha diagnóstica --- mg kg^{-1}---**	**s(m)**
A	0,00	7,4 a	*4,1*	15,8 a	*1,3*
B	0,03	4,0 a	*3,3*	16,6 a	*1,6*
C	0,05	6,8 a	*5,0*	18 a	*5,9*
D	0,10	9,3 a	*0,3*	31 a	*6,8*
E	0,27	11,0 a	*0,2*	30,9 a	*2,2*
F	2,70	9,0 a	*1,9*	138,3 b	*17,6*
G	5,40	10,6 a	*0,4*	290,8 c	*54,7*

s(m) é o desvio padrão da média. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

4.2.1.3 Folha Velha

Constata-se nas tabelas 15 e 16 que não houve efeito significativo entre os tratamentos, embora os tratamentos de deficiência tenham apresentado valores notadamente mais baixos de transpiração.

Observa-se uma tendência do aumento da taxa de assimilação de CO_2 e transpiração, nas figuras 19 e 20 respectivamente, com o aumento da concentração de B na folha. Entretanto, nos tratamentos com elevadas concentrações de boro no limbo foliar, não houve alteração significativa nas taxa de assimilação de CO_2 e transpiração nas folhas deste tratamento, mesmo quando as folhas tenham demonstrado sintomas típicos de toxicidade deste elemento.

Em relação aos sintomas de toxicidade de boro, Scott (1960), em experimento envolvendo toxicidade de boro em girassol, observou um decréscimo de N protéico com o aumento de boro, talvez esta sendo a causa da clorose acentuada. Em condições tóxicas, a concentração de B no citoplasma pode aumentar e formar complexos com NAD^+, (Loomis; Durst, 1992), afetando a fotossíntese.

Talvez a dose utilizada neste experimento não tenha sido suficientemente alta para acumulá-lo no tecido do limbo foliar e, conseqüentemente, afetar de modo significativo a fotossíntese ou transpiração, uma vez que Scott (1960), utilizou 50 mg L^{-1} de B em solução nutritiva, conseguindo teores de B acima de 800 a 2.177 ppm em massa seca de folha.

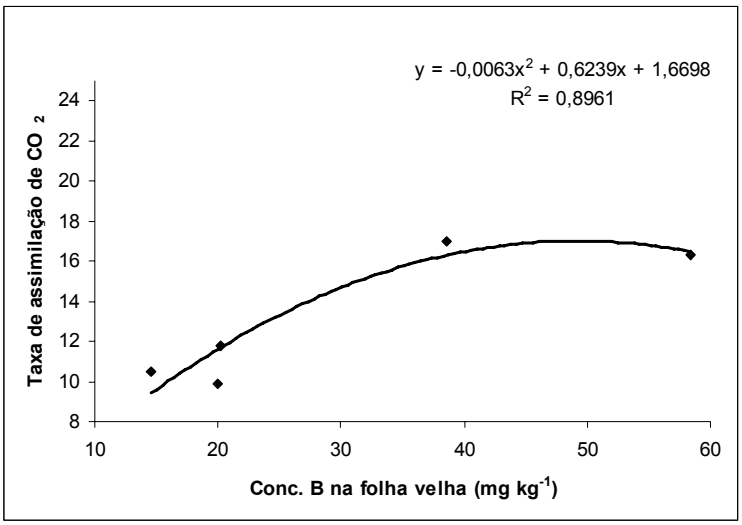

Figura 19. Relação entre a taxa de assimilação de CO_2 e a concentração média de B no tecido (folha velha)

Tabela 15. Taxa de assimilação de CO_2 e a respectiva concentração média de B no tecido (folha velha)

Tratamento	--- mg L^{-1} B ---	Assimilação µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}	s(m)	B na folha velha ---mg kg^{-1}---	s(m)
A	0,00	10,5 a	*6,7*	14,6 a	*3,2*
B	0,03	9,9 a	*0,8*	20 a	*2,9*
C	0,05	11,8 a	*5,1*	20,2 a	*4,2*
D	0,10	17,0 a	*10,9*	38,6 a	*11,9*
E	0,27	16,3 a	*2,8*	58,4 a	*9,0*
F	2,70	21,0 a	*3,4*	167,3 b	*15,7*
G	5,40	14,9 a	*4,6*	265,5 c	*66,0*

s(m) é o desvio padrão da média. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

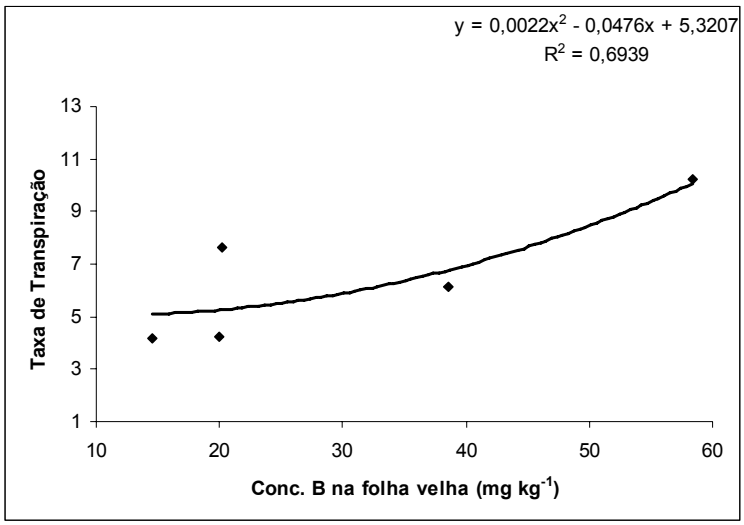

Figura 20. Relação entre a taxa transpiratória e a concentração média de B no tecido (folha velha)

Tabela 16. Taxa transpiratória e a respectiva concentração média de B no tecido (folha velha)

Tratamento	**--- mg L^{-1} B ---**	**Transpiração** **mmol H_2O m^{-2} s^{-1}**	**s(m)**	**B na folha velha** **--- mg kg^{-1} ---**	**s(m)**
A	0,00	4,2 a	*4,5*	14,6 a	*3,2*
B	0,03	4,3 a	*3,2*	20,0 a	*2,9*
C	0,05	7,6 a	*1,9*	20,2 a	*4,2*
D	0,10	6,1 a	*4,2*	38,6 a	*11,9*
E	0,27	10,2 a	*1,1*	58,4 a	*9,0*
F	2,70	10,9 a	*1,0*	167,3 b	*15,7*
G	5,40	10,1 a	*1,3*	265,5 c	*66,0*

s(m) é o desvio padrão da média. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

4.2.2 Análise ultra-estrutural através da Microscopia Eletrônica de Transmissão e Varredura

O principal sintoma ultra-estrutural da deficiência de boro foi o espessamento da lamela média, conforme a figura 21. A lamela média é um componente estrutural da célula situado entre duas paredes celulares primárias adjacentes, cuja composição é de natureza péctica. Isto demonstra uma função quase definida do boro nas plantas relacionadas à estabilização da parede celular. Entretanto, existem também evidências de que o boro exerça papel na manutenção e integridade de membranas (Blevins; Lukaszewsky, 1998), bem como na homeostase citoplasmática, sugerindo que o boro também exerça funções no citoplasma (Gassert et al. 2002).

O espessamento ocorrido na lamela média, causada pela deficiência de boro, pode ser explicado pela função estrutural desempenhada pelo boro com polissacarídeos da pectina, especificamente na formação do dímero *B-Rhamnogalacturonan-2* (B-RG-II) (Kobayashi et al. 1996; Ishii; Matsunaga, 1996; O'Neill et al. 1996) através de uma ligação borato-diol éster. Estas ligações cruzadas resultam na formação de uma rede macromolecular que controla o crescimento da célula (Fleischer et al. 1999), bem como as propriedades mecânicas da parede celular primária (Ishii et al. 2001). Na ausência de boro, a formação deste complexo pode ficar comprometida, resultando no aumento de monômeros de RG-II, tornando a lamela mais grossa, com menor densidade e por fim comprometendo posteriormente o crescimento celular.

Foram notados poucos grânulos de amido junto aos cloroplastos de plantas deficientes (figura 21), o que poderia estar relacionado à redução da síntese de sacarose, provavelmente por causa de um efeito da deficiência de boro no processo

fotossintético. A inibição da ação de fosforilases ou redução na síntese de uracila, precursor da glicose uridina difosfato, afeta a formação de carboidratos, conforme Loué (1993) e Marschner (1995).

Os sintomas de toxicidade de boro, ainda que tenham ocorrido mais rapidamente, foi menos deletério que os sintomas de deficiência, inclusive em nível ultra-estrutural. A principal diferença notada foi a ausência de amiloplastos, ou grânulos de amido, conforme a figura 21, que é uma das principais reservas de energia das plantas. Esta alteração no metabolismo de carboidratos, em razão da toxicidade de boro foi verificada por Scott (1960) em plantas de girassol. A biossíntese de amido ocorre no interior dos cloroplastos e amiloplastos onde estão localizadas as enzimas que catalisam a síntese de polímeros, utilizando como material básico a glicose produzida na fotossíntese (Galliard; Bowler, 1987) e uma redução na disponibilidade da sacarose para metabolização leva à diminuição da produção de amido (Zrenner et al.,1995). A maior parte do boro solúvel está presente no apoplasto, mas isto pode não ocorrer em condições de toxicidade (Matoh, 1997), e desta forma o excesso de boro pode aumentar a concentração deste elemento também no citoplasma. Com base na propriedade do ácido bórico em formar complexos com açúcares, um excesso de boro poderia indiretamente prejudicar a formação de amido. Conforme Marschner (1995), o boro não forma complexo com a sacarose, como o que ocorre com polióis, entretanto, segundo Dembitsky et al. (2002), este micronutriente pode formar complexos com açúcares, fenóis, ácidos orgânicos e polímeros. Tais contradições merecem um estudo mais aprofundado, pois os estudos de toxicidade de boro são poucos na literatura, o mesmo não acontecendo com os que envolvem a sintomatologia de deficiência.

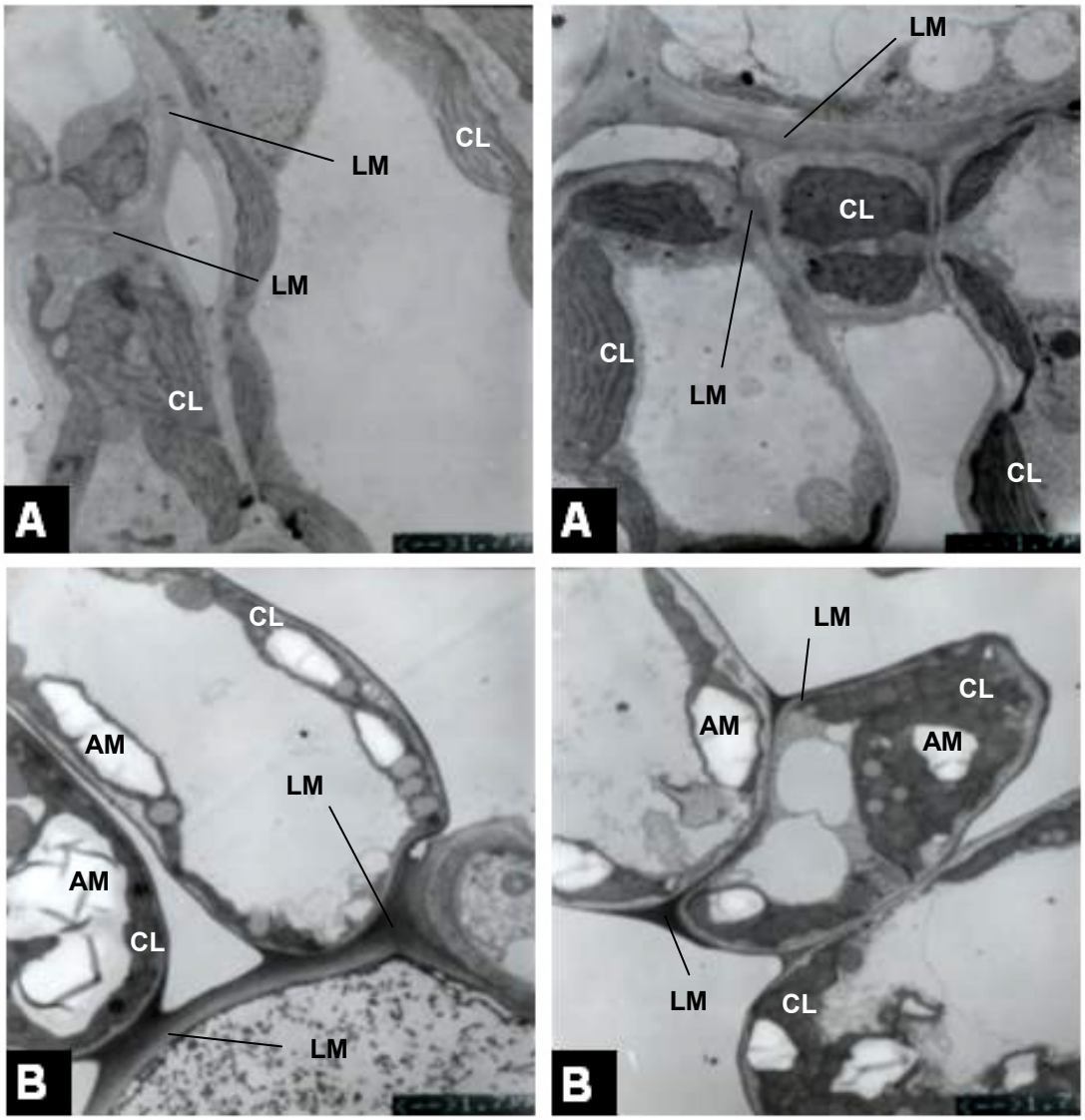

Figura 21. Fotomicrografias de transmissão de células do parênquima lacunoso do limbo foliar de mamoneira (folha nova). **A:** Tratamento sem aplicação de boro (12 mg kg $^{-1}$ B); **B:** Tratamento com aplicação de 0,27 mg L^{-1} de boro (28 mg kg $^{-1}$ B). Em A, nota-se um espessamento da lamela média (LM) e ausência de grânulos de amido (AM) junto ao cloroplasto (CL). Barra = 1,7 µm.

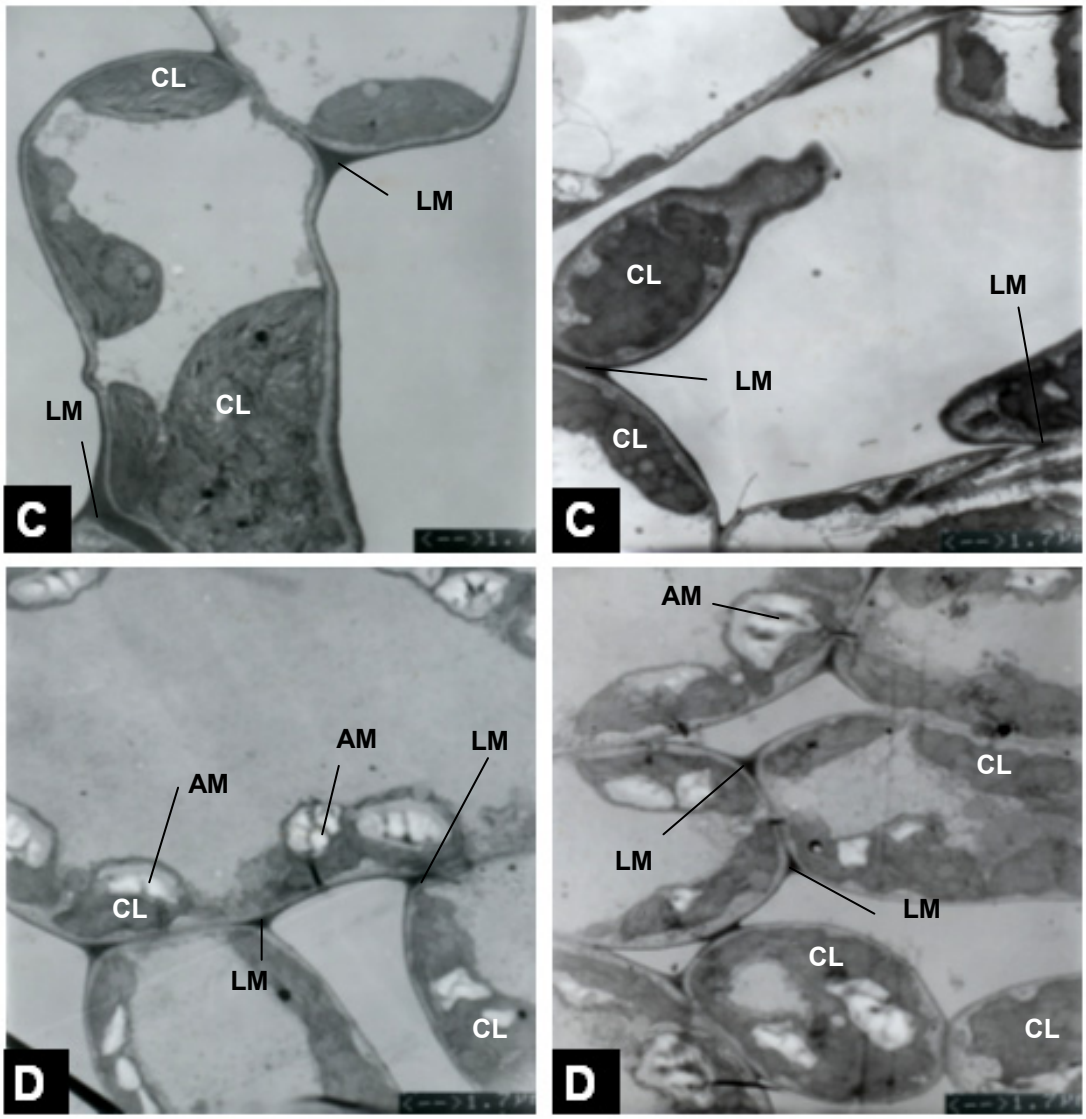

Figura 22. Fotomicrografias de transmissão de células do parênquima lacunoso do limbo foliar de mamoneira (folha velha). **C:** Tratamento com aplicação de 5,40 mg L^{-1} de boro (450 mg kg $^{-1}$ B); **D:** Tratamento com 0,27 mg L^{-1} de boro aplicado (40 mg kg $^{-1}$). Em todos os espécimes analisados, com toxicidade de B, notou-se a ausência grânulos de amido (AM), anexos ao cloroplasto (CL), porém não houve alterações na lamela média. Barra = 1,7µm.

As amostras de pecíolo de folhas velhas, analisadas em microscópio eletrônico de varredura, não apresentaram diferenças morfológicas entre o tratamento de toxicidade (5,40 mg L^{-1} de B) e o normal (0,27 mg L^{-1} de B). No entanto, as amostras de pecíolo de folhas novas submetidas à deficiência de boro (0 mg L^{-1} de B) quando comparadas ao tratamento normal (0,27 mg L^{-1} de B), apresentaram maior espessamento do pecíolo, desorganização e obstrução do xilema (figura 23). Segundo Marschner (1995), estudos de partes de plantas deficientes em boro mostraram deslignificação das paredes das células do esclerênquima. Em plantas de girassol deficientes em boro, observou-se redução significativa no conteúdo total de lignina e da enzima peroxidase, catalisadora da síntese de lignina (Dutta; McIlrath, 1964).

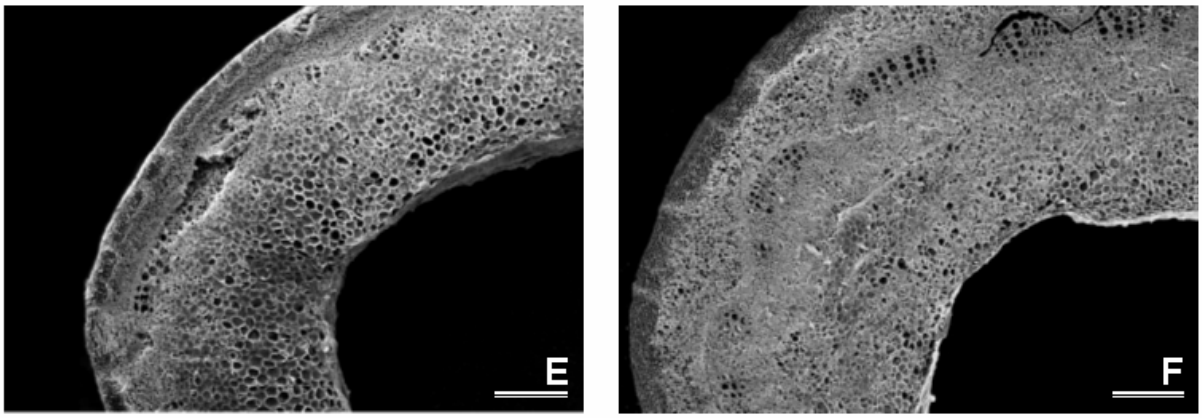

Figura 23. Fotomicrografia de varredura da secção do pecíolo (folha velha). **E:** Tratamento 0,27 mg L^{-1} boro (20 mg kg $^{-1}$ B); **F:** Tratamento sem aplicação de boro (11 mg kg $^{-1}$ B): nota-se um desarranjo e obstrução do xilema e maior espessura do pecíolo. Barra: 0,6 mm.

A função do boro na síntese de lignina pode estar relacionado à formação de complexos de boratos com fenóis, regulando a taxa de fenóis livres que são precursores da síntese de lignina (Lewis 1980; Pilbeam; Kirkby, 1983; Shkolnk, 1984). Entretanto, embora o processo de lignificação esteja associado à parede celular secundária, ele geralmente se inicia na lamela média e parede celular

primária. De acordo com Fleischer et al. (1999) e Dell e Huang (1997) a função primária do boro na expansão celular é menos expressivo que a da divisão celular e que esta é uma conseqüência de anormalidade na formação da parede celular primária, que afeta o processo de mitose celular.

A superfície do limbo foliar de folhas deficiente também se mostrou irregular, maior número de estômatos menores e deformados (figura 24). Este comportamento pode estar relacionado a um menor crescimento da área foliar, relacionado à função do boro, no processo de divisão celular.

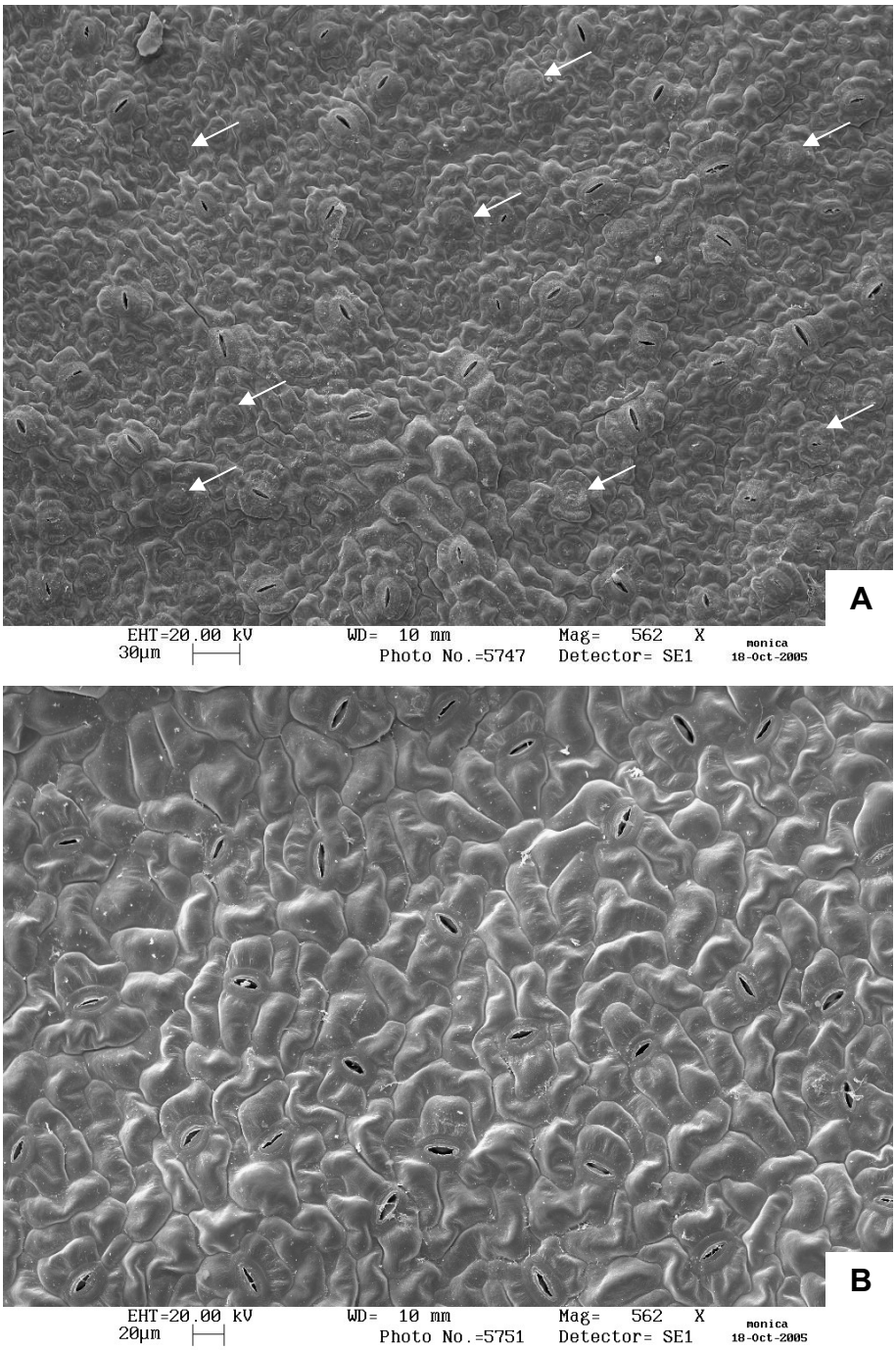

Figura 24. Fotomicrografias de varredura da superfície abaxial da folha nova. A - ausência de aplicação de boro; B- Tratamento 0,27 mg L^{-1} B. Em A nota-se a irregularidade da superfície e a presença de estômatos menores, e pouco desenvolvidos (indicado pelas setas).

4.3 Experimento 2 - Absorção, Transporte e Redistribuição do boro na mamoneira

4.3.1 Produção de matéria seca

Constata-se na figura 25 que as produções de matéria seca das partes vegetativas não diferiram entre os tratamentos Y e T. Entretanto a produção de frutos e sementes do tratamento X (com aplicações foliares de B) foi menor que os demais tratamentos. Desta forma pode-se considerar que a menor média de produção de frutos e sementes deste tratamento foi o primeiro indício de que as aplicações foliares de boro não se mostraram efetivas para suprir adequadamente a planta no estádio reprodutivo.

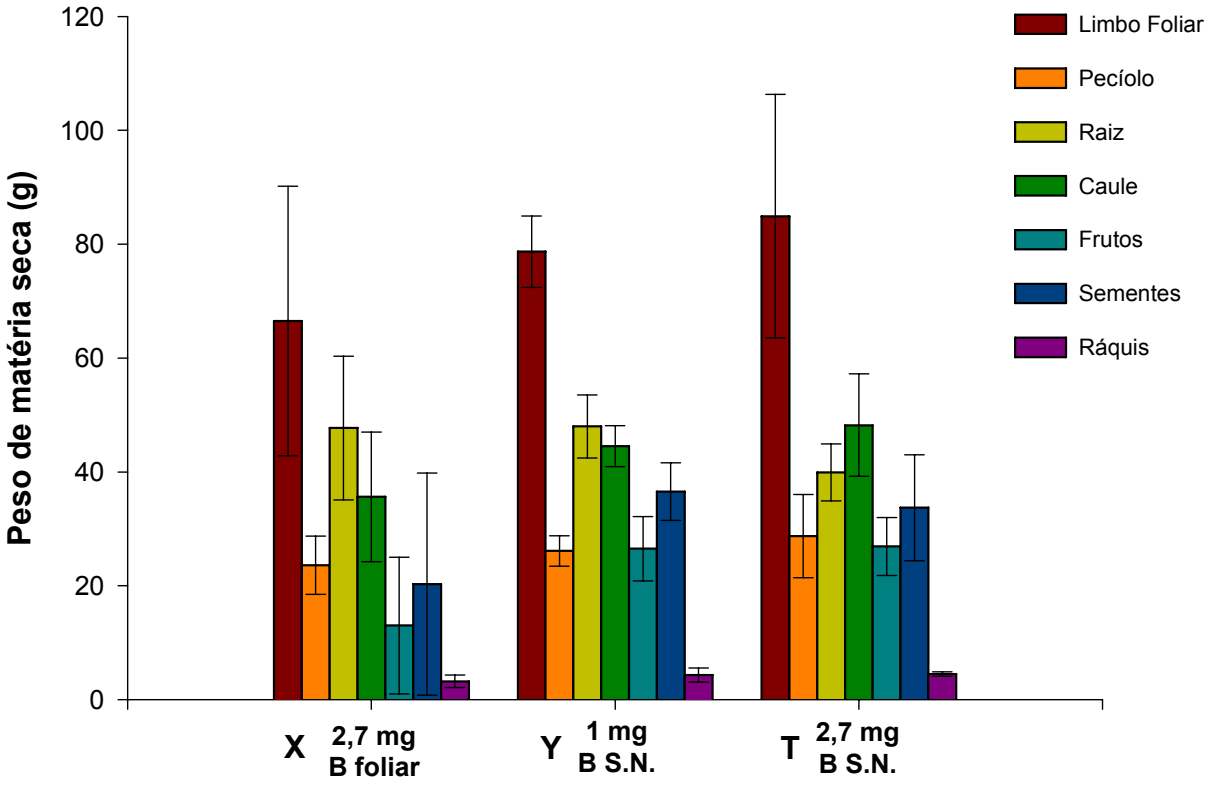

Figura 25. Produção de matéria seca das plantas submetidas aos tratamentos. (valores médios dos tratamentos e o erro padrão da média).

4.3.2 Absorção foliar

Constata-se na tabela 17 e 18 que a média da quantidade total de B foi de 5,8 mg por planta, sendo que 1,35 mg foi proveniente de 3 aplicações de 2,7 mg B por planta, correspondendo a 23% do total de B encontrado. A parte não absorvida provavelmente pode ter sido retirada por ocasião da lavagem com água desionizada, antes da análise química de boro.

Conforme Boaretto (2006) a quantidade e a intensidade do B absorvido pelas folhas variam de acordo com as espécies vegetais. Na revisão realizada pelo mesmo autor, são citados Kerrien et al. (1997), que ao utilizarem várias fontes de B enriquecidas com ^{10}B, demonstraram que cerca de 10% do B aplicado nas folhas de rabanete foi absorvido após 2 dias da aplicação e 12% após 12 dias. Picchioni et al. (1995) pulverizaram soluções enriquecidas em ^{10}B nas folhas de macieira, pereira, ameixeira e cerejeira, e verificaram que após 24 horas da pulverização cerca de 88% a 96% do B aplicado foi absorvido pelas folhas.

Comparando-se as produções de matéria seca entre os tratamentos T e X (tabela 18), nota-se que T apresentou maior produção que X, desta forma a aplicação de boro via solução nutritiva mostrou-se mais eficiente que a aplicação na folha. Entretanto deve ser ponderado, que houve uma concentração média de 50 µg L^{-1} de boro na água desionizada produzida na casa de vegetação. Conseqüentemente cada vaso de solução nutritiva recebeu, a cada troca ou reposição, água desionizada com concentração de 0,05 mg L^{-1} de B, que pode ter contribuído para elevar a concentração de B no limbo foliar.

4.3.3 Redistribuição de boro na mamoneira

Os resultados demonstraram, conforme as tabelas 17 e 18, que a maior parte do boro que foi absorvido ficou retido na folha (14,3 mg kg^{-1} de B) e outra parte redistribuiu para os frutos (14,1 mg kg^{-1} de B). No entanto ocorreu baixa redistribuição das folhas para as raízes (0,8 mg kg^{-1} de B). Na figura 26, observa-se um maior percentual de boro redistribuído para os frutos do que para as raízes. Este comportamento poderia ser explicado pela relação fonte-dreno: Por ocasião da formação do racemo, a raiz já estaria plenamente formada, com o crescimento limitado pelo volume do recipiente, ou mesmo pelo estádio reprodutivo onde ocorre mobilização das reservas das folhas para os frutos. Desta forma, acredita-se que os produtos fotoassimilados da folha podem ter redistribuído para folha, juntamente com o boro.

A redistribuição de B ocorre nas espécies que produzem polióis, pois formam complexos poliol-B-poliol nos tecidos fotossintéticos e estes são transportados pelo floema até os drenos ativos, como meristemas vegetativos e reprodutivos (BROWN; HU, 1996; HU et al., 1997).

Entretanto, Marschner (1995) afirma que o boro não forma complexo com a sacarose, mas Zimmermann e Ziegler (1975) examinaram os exsudatos de floema de diversas plantas, entre elas, o *Ricinus communis* L. Embora não tenham constatado a presença de polióis como o mannitol, sorbitol ou dulcitol, encontraram uma pequena quantidade de mioinositol. Entretanto, não foi encontrado na literatura nenhum trabalho relacionando a redistribuição de boro associado especificamente a este poliol.

A baixa redistribuição deste elemento indica que as aplicações de boro na folha podem ser pouco efetivas para remediar uma deficiência, exceto se aplicado

diretamente sobre o tecido deficiente. Brown e Hu (1995), contudo, citam que em espécies que produzem polióis, a aplicação foliar pode se mostrar efetiva.

4.3.4 Transporte de boro na mamoneira

Nas tabelas 19 e 20, constata-se que a quantidade média de B presente nas plantas do tratamento Y foi de 8,4 mg, sendo que destas, 2,21 mg foram provenientes das 3 aplicações de 1 mg de B na solução nutritiva. Desta forma, obtém-se que a contribuição desta adubação foi de 26,3 % do total de boro determinado na planta no momento da colheita. Os resultados demonstram ainda que a maior parte do boro absorvido foi transportada para as folhas e frutos (17,2 e 18,5 mg kg^{-1} respectivamente).

Entretanto, em razão das reposições diárias de água desionizada com 0,05 mg L^{-1} de B (com abundância isotópica de ^{10}B natural), a concentração de boro e a relação de $^{10}B/^{11}B$ poderiam ter sido maior que a considerada na solução nutritiva. Conseqüentemente a quantidade de boro transportada da raiz para o fruto poderia ser ainda maior que a encontrada neste trabalho.

4.3.5 Comparações de eficiência

Uma importante constatação pode ser observada entre os tratamentos: O Tratamento Y (com aplicações de 1 mg de B em solução nutritiva em cada troca) propiciou um aumento da concentração de boro nas plantas superior ao Tratamento X (com aplicações de 2,7 mg de B via foliar).

Acredita-se, portanto, que a utilização de boro via solução nutritiva foi mais eficiente que a aplicação foliar. Subentende-se, portanto que a aplicação de B via foliar, na prática, deve realizada somente em casos de remediação e devem-se considerar as perdas da não absorção deste elemento pelas folhas.

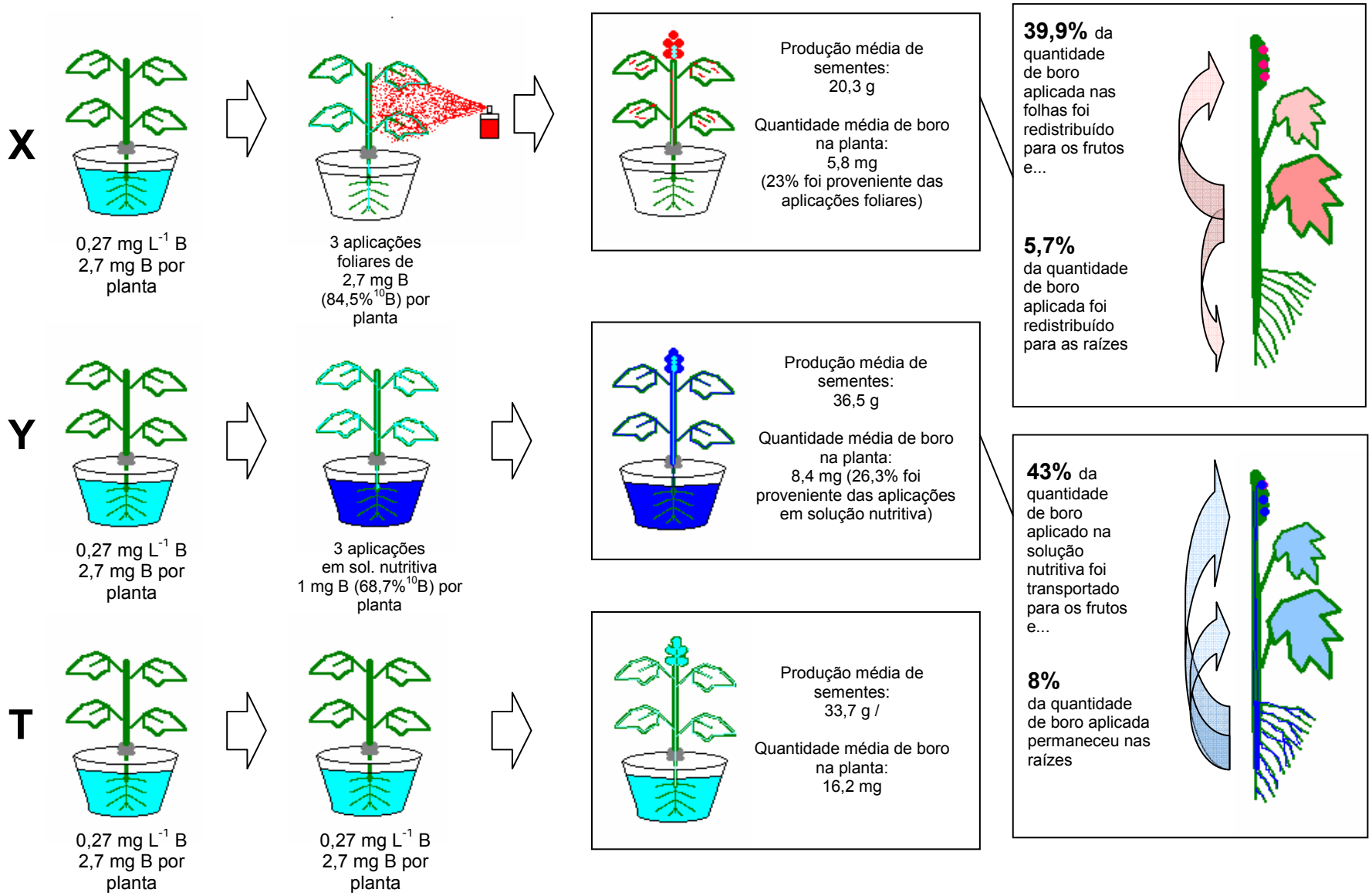

Figura 26. Esquema dos procedimentos do 2°experimento. Nos quadros, parte dos resultados obtidos.

Tabela 17. Comparação entre as concentrações médias de boro total e %^{10}B nas diversas partes da planta (tratamentos T e X)

parte da planta	Tratamento T[1]				Tratamento X[2]						
	B total	*s (m)*[3]	%^{10}B	*s (m)*[3]	**B total**	*s (m)*[3]	%^{10}B	*s (m)*[3]	% Bppf [2]	**mg kg^{-1} de B pf [4]**	total de B por parte pf
folha	**136,5**	14,5	19,3	1,5	**48,3**	9,5	38,8	1,5	29,7	**14,3**	0,63
pecíolo	**26,1**	3,6	19,3	1	**17,9**	3	30,3	1,9	16,6	**3,0**	0,05
caule	**18,5**	2,8	18,9	0,6	**19,6**	1,4	23,6	1,6	6,3	**1,2**	0,02
fruto	**51,2**	2,5	19,9	2,4	**36**	6,3	45,4	1,2	39,9	**14,1**	0,46
raquis	**34,2**	1,9	19,6	1,6	**29,7**	4,7	31,4	0,7	18,3	**5,4**	0,15
semente	**19,3**	3,1	20	2,5	**9,9**	0,1	46,5	2,3	41,5	**4,11**	0,04
raiz	**17,6**	2,5	19,2	1	**13,8**	5,1	23,2	3	5,7	**0,8**	0,01

Quantidade média de B presente na planta proveniente das 3 aplicações foliares (enriquecida em ^{10}B): 1,35 mg

Tabela 18. Comparação entre as quantidades de boro presente nas plantas dos tratamentos T e X

parte da planta	Tratamento T[1]				Tratamento X[2]			
	Produção de MS (g)	*s (m)*[3]	B total (mg kg^{-1})	boro total (mg) por parte	**Produção de MS (g)**	*s (m)*[3]	B total (mg kg^{-1})	boro total (mg) por parte
folha	**84,9**	21,4	136,5	11,6	**66,5**	23,7	48,3	3,21
pecíolo	**28,7**	7,3	26,1	0,7	**23,6**	5,1	17,9	0,42
caule	**48,2**	9,0	18,5	0,9	**35,6**	11,4	19,6	0,70
fruto	**26,9**	5,1	51,2	1,4	**13,0**	12,0	36,0	0,47
raquis	**4,5**	0,4	34,2	0,2	**3,22**	1,1	29,7	0,10
semente	**33,7**	9,3	19,3	0,7	**20,3**	19,5	9,9	0,20
raiz	**39,9**	5,0	17,6	0,7	**47,7**	12,6	13,8	0,66
Quantidade média de B por planta:				**16,2 mg**				**5,8 mg**

[1] Aplicações de 2,7 mg de boro por planta em 10 L de solução nutritiva
[2] Aplicações de 2,7 mg de boro por planta em aplicação foliar (enriquecido a 84,5 % em ^{10}B)
[3] Desvio padrão da média
[4] mg kg^{-1} de boro proveniente do fertilizante

Tabela 19. Comparação entre as concentrações médias de boro total e $\%^{10}B$ nas diversas partes da planta (tratamentos T e Y)

parte da planta	Tratamento T[1]				Tratamento Y[2]						
	B total	*s (m)*[3]	$\%^{10}B$	*s (m)*[3]	**B total**	*s (m)*[3]	$\%^{10}B$	*s (m)*[3]	% Bppf [2]	**mg kg^{-1} de B pf [4]**	total de B por parte pf
folha	**136,5**	14,5	19,3	1,5	**59,2**	12,5	33,6	5,7	29	**17,5**	1,04
pecíolo	**26,1**	3,6	19,3	1	**20,9**	3,3	28,2	2,3	18	**3,8**	0,08
caule	**18,5**	2,8	18,9	0,6	**18,6**	2,0	23,1	0,9	7	**1,3**	0,03
fruto	**51,2**	2,5	19,9	2,4	**43,1**	5,8	40,6	7,1	43	**18,5**	0,81
raquis	**34,2**	1,9	19,6	1,6	**26,8**	2,6	32,3	2,8	26	**7,1**	0,19
semente	**19,3**	3,1	20	2,5	**10,6**	1,0	41,7	8,7	45	**4,8**	0,05
raiz	**17,6**	2,5	19,2	1	**14,8**	0,7	23,2	3,2	8	**1,2**	0,02

Quantidade média de B presente na planta proveniente das 3 aplicações por solução nutritiva (enriquecida em ^{10}B): 2,21 mg

Tabela 20. Comparação entre as quantidades de boro presente nas plantas dos tratamentos T e Y

parte da planta	Tratamento T[1]				Tratamento Y[2]			
	Produção de MS (g)	*s (m)*[3]	B total (mg kg^{-1})	boro total (mg) por parte	**Produção de MS (g)**	*s (m)*[3]	B total (mg kg^{-1})	boro total (g) por parte
folha	**84,9**	21,4	136,5	11,6	**78,7**	6,27	59,2	4,66
pecíolo	**28,7**	7,3	26,1	0,7	**26,1**	2,66	20,9	0,55
caule	**48,2**	9,0	18,5	0,9	**44,5**	3,61	18,6	0,83
fruto	**26,9**	5,1	51,2	1,4	**26,5**	5,65	43,1	1,14
raquis	**4,5**	0,4	34,2	0,2	**4,32**	1,23	26,8	0,12
semente	**33,7**	9,3	19,3	0,7	**36,55**	5,07	10,6	0,39
raiz	**39,9**	5,0	17,6	0,7	**47,98**	5,54	14,8	0,71
Quantidade média de B por planta:				**16,2 mg**				**8,4 mg**

[1] 3 Aplicações de 2,7 mg de boro por planta em 10 L de solução nutritiva
[2] 3 Aplicações de 1 mg de boro por planta em solução nutritiva (enriquecido a 68,7 % em ^{10}B)
[3] Desvio padrão da média
[4] mg kg^{-1} de boro proveniente do fertilizante

5 CONCLUSÕES

- A deficiência de boro limitou a produção de sementes de mamoneira cultivada em solução nutritiva.
- O intervalo entre os limites críticos de deficiência e toxicidade de boro na mamoneira não foi estreito. Uma concentração de boro 20 vezes maior que o padrão não foi suficiente para afetar a produção de sementes.
- A deficiência de boro afetou significativamente a taxa de transpiração em folhas novas, e não houve diferença significativa entre as taxas de assimilação de CO_2 e de transpiração em outros tratamentos, embora as plantas submetidas à deficiência de B apresentaram sempre valores menores.
- Constatou-se que em plantas deficientes em boro ocorreram deformações da superfície foliar (folha nova) com a presença estômatos mal formados. Nas células do mesófilo, houve engrossamento da lamela média e ausência de grânulos de amido nos cloroplastos. Em plantas com sintomas de toxicidade não foram constatadas alterações na lamela média.
- A redistribuição de boro nesta espécie foi expressiva das folhas para o fruto; quase ausente, das folhas para as raízes.
- A aplicação de boro via solução nutritiva (1 mg de B por aplicação) se mostrou mais eficiente que a aplicação foliar (2,7 mg de B por aplicação) em elevar o teor de boro na semente ou fruto.

6 REFERÊNCIAS

BELLALOUI, N., BROWN, P.H., 1998. Cultivar differences in boron uptake and distribution in celery (*Apium graveolens*), tomato (*Lycopersicon esculentum*) and wheat (*Triticum aestivum*). **Plant and Soil**, Dordrecht, v.198, p153–158.

BELLATO, A. C. D. S. Determinação isotópica e elementar de boro em amostras vegetais por espectrometria de massas com fonte de plasma (ICP-MS). 1999. 71 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

BELLATO, A. C. D. S. Determinação de boro e molibdênio em amostras biológicas por espectrometria de massas com fonte de plasma (ICP-MS). 2004. 105 f. **Tese** (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

BENTON, H. H. Boron. In: BENTON, H. H. **The New Encyclopedia Britannica Micropaedia**. 15. ed. Chicago: University of Chicago, 1974. v. 2, p. 171.

BLEVINS, D. G.; LUKASZEWSKI, K. M. Boron plant structure and function. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 49, p. 481-500, 1998.

BOARETTO, R.M. Boro (^{10}B) em laranjeira: absorção e mobilidade. **Tese** (Doutorado em Ciências) 2006. 120p. Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

BROWN, P. H.; HU, H.; DANDEKAR, A. Transgenically enhanced sorbitol synthesis facilitates phloem boron transport and increases tolerance of tobacco to B deficiency. **Plant Physiology**, Rockville, v.119, p.17-20. 1999.

BROWN, P.H.; HU, H. Phloem mobility of boron in species dependent: evidence of boron mobility in sorbitol-rich species. **Annals of Botany**, London, v. 77, n. 5, p. 497-505, 1996.

BROWN, P. H.; SHELP, B. J. Boron mobility in plants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.193**,** p. 85-101. 1997a

BROWN, P. H.; SHELP, B. J. Boron mobility in plants. In: DELL, B.; BROWN, P. H.; BELL, R. W. **Boron in soils and plants: Reviews,** Dordrecht: Kluwer Academic, 1997b. p. 85-101.

BROWN, P.H.; HU, H. Does boron play only a structural role in the growing tissues of higher plants? **Plant and Soil,** Dordrech v.196, p. 211–215, 1997.

BROWN, P. H.; HU, H. Phloem boron mobility in diverse plant species. **Botanica Acta**, Stuttgart, v. 111, p. 331-335, 1998.

CAKMAK I, RÖMHELD V. Boron deficiency-induced impairments of cellular functions in plants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.193, p.71–83. 1997.

CALIXTO, J. B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**, Campinas. v55, n.3, p.37-39. 2003

CHEMSOC. The Royal Society of Chemistry. Visual Elements. Acessado em 11/04/2005 em: http://www.chemsoc.org/viselements/pages/boron.html

COKE, L.; WHITTINGTON, W.J. The role of boron in plant growth: IV. Interrelationships between boron and indol-3yl-acetic acid in the metabolism of bean radicles. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.19, p.295-308, 1968.

COLNAGO, L.A. Análise do teor de óleo em sementes por RMN. **Circular Técnica**, EMBRAPA. n. 3/96. 1996. 14p.

DAI, Z.; EDWARDS, G.E.; KU, M.S.B. Control of Photosynthesis and stomatal condutance in Ricinus communis L. (castor bean) by leaf to air vapor pressure deficit. Plant Physiology, Rockville, v.99, p.1426-1434. 1992.

DECHEN, A.R.; NACHTIGALL, G.R. Micronutrientes. In: FERNANDES, M. (Ed.) **Nutrição Mineral de Plantas**, Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006, 327-354p.

DELL, B.; HUANG L. Physiological response of plants to low boron. Plant and Soil, Dordrecht, v. 193, p.103-120, 1997.

DEMBITSKY, V.M.; SMOUM, R.; AL-QUNTAR, A.A.; ALI, H.A.; PERGMAMENT, I.; SREBNIK, M. Natural occurrence of boron-containing compounds in plants, algae and microorganisms. **Plant Science**, Amsterdam, v. 163, p. 931-942, 2002.

DUTTA, T. R.; McILRATH, J. Effects of boron on growth and lignification in sunflower tissue and organ cultures. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 125, p. 89-96, 1964.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Agropecuária. 2005. Internet, acessado em :

<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mamona/CultivodaMamona/adubacao.htm>

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. Nutrition and growth. In: EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives**. 2. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2005. p. 243-273.

FASSETT, J. D.; PAULSEN, P.J. Isotope dilution mass spectrometry for accurate elemental analysis. **Analytical Chemistry**. Washington, v. 61, p. 643A-649A, 1989.

FLEISCHER, A.; O' NEILL, M.A.; EHWALD, R. The pore size of nongraminaceous plant cell walls is rapidly decreased by borate ester crosslinking of the pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II. **Plant Physiology**, v.121, p. 829–838, 1999

FURLANI, A. M. C.; Nutrição Mineral. In: KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. 1a. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2004, 452 p. p. 40-75.

GALLIARD, T.; BOWLER, P. Morphology and composition of starch. In: T. Galliard. **Starch Properties and Potential**, Chichester : Wiley. pp. 55-78. 1987.

GASSERT, B.; SPRICH, E.; PFEFFER, H.; DANNEL, F.; WIRÉN, N.; ROMHELD, V. Characterization of boron uptake in higher plants. In: GOLDBACH, H. E. et al. **Boron in plant and animal nutrition**. New York: Kluwer Academic, 2002. p. 119-126.

GINÉ, M. F.; MENEGÁRIO, A. A.; BELLATO, A. C. D.; PACKER, A. P. MIRANDA, C. E. S.; ALMEIDA, C. R. O sistema ICP-MS. In: _____. **Espectrometria de massas com fonte de plasma**. 1. ed. Piracicaba: Centro de Energia Nuclear na Agricultura – Universidade de São Paulo, Série didática, 1999. p. 41-53.

GOLDBACH, H.E.;HUANG, L.;WIMMER, M.A. Boron functions in plants and animals: recent advances in boron research and open questions. In: XU, F. et al. (eds). **Advances in plant and animal boron nutrition.** Wuhan: Springer, 2007. p.3-25.

GONÇALVES, N.P.; FARIA, M.A.V.R.; SATURNINO, H.M.; PACHECO, D.D. Cultura da mamoneira. **Informe agropecuário,** Belo Horizonte. v.26, n. 229, p.28-32, 2005.

GRASSI FILHO, H., Níveis de cálcio e boro e suas interações, afetando o desenvolvimento do sistema radicular, a composição mineral e o vigor do limoeiro cravo [Citros limonia (L.) Osbeck), em condições controladas. Piracicaba, ESALQ/USP (**Dissertação de Mestrado**), 1991. 92p.

GUPTA, U.C. Boron nutrition of crops. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 31, p. 273-307, 1979.

GUTIERREZ, L.E. Biossíntese de lipídios. In: FERRI, M.G. **Fisiologia Vegetal**. São Paulo: EPU, EDUSP, v.1, 1979, 293-299p.

HAVLIN, J.L.; BEATON, J.D.; TISDALE, S.L.; NELSON, W.L. **Soil Fertility and Fertilizers: An Introduction to Nutrient Management** 7.ed. 2005.

HEATH, R.L. Table of isotopes. In: WEAST, R.C. ed. **Handbook of Chemistry and Physics**. 53a ed. Cleveland: The Chemical Rubber Co. p.270-354, 1973.

HU, H.; PENN, S. G.; LEBRILLA, C. B.; BROWN, P. H. Isolation and characterization of soluble boron complexes in higher plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 113, n. 2, p. 649-655, 1997.

IBGE. www.ibge.br. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola para Dezembro de 2005. Disponível em abril de 2006.

INOUE, M.T.; RIBEIRO, F.A.. Fotossíntese e transpiração de clones de *Eucalyptus grandis* e *E. saligna***. IPEF**. v.40, p.15-20, 1988.

ISHII, T.; MATSUNAGA, T. Isolation and characterization of a boronrhamnogalacturonan-II complex from cell walls of sugar beet pulp. **Carbohydrate Research** v.284 p.1-9, 1996.

ISHII, T.; MATSUNAGA, T.; HAYASHI, N. Formation of rhamnogalacturonan II-borate dimer in pectin determines cell wall thickness of pumpkin tissue. **Plant Physiology,** Rockville, v.126, p.1698–1705, 2001.

JIAO X.;ZHU Y.;QUICK W.P.; JARVIS, B.C.; YANG, Z.; ZHAO R. Effects of boron deficiency on photosynthesis and carbohydrate status in leaf of mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb). Abstracts. In: **III International Colloquium of Boron**. Wuhan China, 2005.

JOHNSON, C.M.; STOUT, P.R.; BROYER, T.C.; CARLTON, A.B. Comparative chlorine requirements of different plants species. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.8, p.337-353, 1957.

JOLY, A.B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal.** 13. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 2002. 777 p.

KERRIEN, F.; CHAMEL, A.; IMBERT, J. L. Comparative study of foliar uptake and translocation of boron (^{10}B) supplied as four different products in radish plants. In: BELL, R.W.; RERKASEM, B. **Boron in soils and plants**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1997. p. 191-195.

KOBAYASHI, M.; MATOH, T.; AZUMA, J. Two chains of rhamnogalacturonan II are cross-linked by borate-diol ester bonds in higher plant cell walls. **Plant Physiology,** Rockville, v.110, p.1017–1020, 1996.

LANGE, A.; MARTINES, A.M.; SILVA, M.A.C. Micronutrient deficiency effect on the nutritional status of the castor bean cultivar Iris. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília v.40, p.61-67, 2005.

LENOBLE, M.E.; BLEVINS, D.G.; MILES, R.J. Extra boron maintains root growth under toxic aluminum conditions. **Better Crops**, Norcross, Summer, p.3-5, 1993.

LEWIS, O.H. Boron, lignification and the origin of vascular plants: a unified hypothesis. **New Phytologist**, Cambridge, v. 84, p.209-229, 1980.

LOOMIS, W. D.; DURST, R. W. Chemistry and biology of boron. **BioFactors**, Oxford, v. 3, n. 4, p. 229-239, 1992.

LOUÉ, A. **Oligo-éléments en agriculture**. Antibes: Nathan, 1993. 557 p.

MALAVOLTA E. **Elementos de Nutrição Mineral de Plantas.** Piracicaba: Editora Agronômica Ceres. 1980. 252p.

MALAVOLTA, E. Efeito de deficiência de micronutrientes no estado nutricional da mamoneira cultivar Íris. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília. v.40, n. 1, p.61-67. 2005.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. Metodologia para análise de elemento em material vegetal. In: MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações.** 2. ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. p. 231-307.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1995. 889 p.

MATOH T. Boron in plant cell walls. In: DELL, B.; BROWN, P.H.; BELL, R.W. **Boron in Soil and Plants: Reviews**. London: Kluwer Academic Press, v.193 p.59-70. 1997.

MATOH, T.; KOBAYASHI, M. Boron in plant cell walls. In: GOLDBACH, H. E.; et al. **Boron in plant and animal nutrition**. New York: Kluwer Academic, 2002. p.143-155.

MATTOS JUNIOR, D.; QUAGGIO, J.A.; CANTARELLA, H. Calagem e adubação dos citros. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 22, n. 209, p. 39-46, 2001.

MENGEL, K.; KIRKBY, E. **Principles of plant nutrition.** 5.ed. Dordrecht/ Boston/ London: Kluwer Academic Publisher. 849p. 2001.

NABLE, R.O.; BANUELOS, G.S.; PAULL, J.G. Boron toxicity. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.193, p.181–198. 1997.

O'NEILL, M.A.; WARRENFELTZ, D.; KATES, K.; PELLERIN, P.; DOCO, T.; DARVILL, A.G.; ALBERSHEIM, P. Rhamnogalacturonan II, a pectic polysaccharide in the walls of growing plant cells, forms a dimer that is covalently cross-linked by a borate ester. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda. v.271, p.22923–22930, 1996.

PAPADAKIS, I. E.; DIMASSI, K. N.; THERIOS, I. N. Response of two citrus genotypes to six boron concentrations: concentration and distribution of nutrients, total absorption, and nutrient use efficiency. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 54, n. 6, p. 571-580, 2003.

PAPADAKIS, I. E.; DIMASSI, K. N.; BOSABALIDIS, A. M.; THERIOS, I. N.; PATAKAS, A.; GIANNAKOULA, A. Effects of B excess on some physiological and anatomical parameters of 'Navelina' orange plants grafted on two rootstocks. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 3, p. 247-257, 2004.

PARENTE, E. J. S. Biodiesel no plural: oportunidades e ameaças para um programa nacional. In: HOLANDA A. **Biodiesel e Inclusão Social**. Brasília. 2003. 200p.

PAIS, I.; BENTON JONES, J. **The Handbook of trace elements**. St. Lucie Press, Boca Raton. 223p. 2000.

PAULO, E.M. BATAGLIA, O.C.; KASAI, F.S.; CAVICHIOLI, J.C. Deficiência de boro em mamona. **Bragantia**, Campinas. v. 48, n.2, p.241-247, 1989.

PICCHIONI, G. A.; WEINBAUM, S. A.; BROWN, P. H. Retention and the kinetics of uptake and export of foliage-applied, labeled boron by apple, pear, prune and sweet cherry leaves. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 120, n. 1, p. 28-35, 1995.

PILBEAM, D.J.; KIRKBY, E.A. The physiological role of boron in plants. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 6, p.563-582, 1983.

ROMANO, M. R.; **Análise de Crescimento, produção de biomassa, fotossíntese e biossíntese de aminoácidos em plantas transgênicas de tabaco (***Nicotiana tabacum* L.*)* **que expressam o gene** *Lhcb1*2* **de ervilha**. Piracicaba, SP. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. 2001. p.4.

SAH, R. N.; BROWN, P. H. Techniques for boron determination and their application to the analysis of plant and soil samples. In: DELL, B.; BROWN, P.H.; BELL, R.W.

Boron in Soil and Plants: Reviews, London, Kluwer Academic Press, v.193, p.15-33.1997.

SAVY FILHO, A. **Mamona – Tecnologia agrícola**. 1ed. Campinas: Emopi. 2005.105p.

SCOTT, E.G. Effect of supra-optimal boron levels on respiration and carbohydrate metabolism of *Helianthus annuus*. **Plant Physiology**, Rockville, v.35, p.653–661, 1960.

SEVERINO, L. S. O que sabemos sobre a torta de mamona. **Documentos.** Embrapa: Centro Nacional de Pesquisa do Algodão, Campina Grande, Paraíba, n° 137. __p. 2005.

SHARMA, P. N.; RAMCHANDRA, T. Water relations and photosynthesis in mustard plants subjected to boron deficiency. **Indian Journal Of Plant Physiology,** New Delhi, v.33 (2), p.150-154. 1990.

SHELP, B.J., Boron mobility and nutrition in broccoli (*Brassica oleracea* var. italica). **Annals of Botany**, Oxford. v.61, p.83–91. 1988.

SHKOLNIK, M.Y. **Trace elements in plants**. Amsterdam: Elsevier, 1984. 463 p.

SHORROCKS, V. M. The occurrence and correction of boron deficiency. In: DELL, B.; BROWN, P.H.; BELL, R.W. **Boron in soils and plants: Reviews**. Dordrecht: Kluwer Academic,1997. p. 121-148.

TAIZ, L. Células vegetais. In: TAIZ, L. ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3ed. Porto Alegre: Artmed. 2004. 29-54p.

TEIXEIRA, L.C. Potencialidade de oleaginosas para produção de biodiesel. **Informe agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 229, p.18-27, 2005.

VENTER, H.A.; CURRIER, H.B. The effect of boron deficiency on callose formation and 14C translocation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 64, p. 861-865, 1997.

VERSTRAETEN, S.V.; LANOUE, L.; KEEN, C.L.; OTEIZA P.I. Relevance of lipid polar headgroups on boron-mediated changes in membrane physical properties. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. v.438, p103-110, 2005.

ZIMMERMANN, M. H.; ZIEGLER, H. List of sugars and sugar alcohols in sieve-tube exudates. In: ZIMMERMANN, M. H.; MILBURN, J. A. **Encyclopedia of Plant Physiology**, Berlin, sp. 1975.

ZRENNER, R.; SALANOUBAT, M.; WILLMITZER, L.; SONNEWALD, U. Evidence of the crucial role of sucrose synthase for sink strength using transgenic potato plants (Solanum tuberosum, L.). **Plant Journal**, Oxford, v.7, p.97-107, 1995.