

# DEFICIÊNCIA DE BORO NO METABOLISMO DE PONTAS DE RAÍZES DE TOMATEIRO<sup>1</sup>

MARCOS A. MACHADO<sup>2</sup> e MARIA MERCÊS DE S. GOMES<sup>3</sup>

**RESUMO** - Estudaram-se as variações de crescimento, açúcares solúveis totais, mono e polifenóis, proteínas e ácidos ribonucléicos em pontas de raízes de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Campbell 33), submetido à deficiência de boro por 0, 2, 4 e 6 dias. A partir do segundo dia, a deficiência de boro reduziu o crescimento das plantas, os teores de açúcares solúveis (fato provavelmente associado à maior síntese de material estrutural) e de monofenóis (associado à maior oxidação desses compostos). Polifenóis, proteínas e ARN sofreram aumentos nas raízes deficientes. Possivelmente o boro tem ação mais direta sobre o metabolismo de ácidos ribonucléicos que de proteínas.

Termos para indexação: nutrição mineral, *Lycopersicon esculentum*.

## EFFECTS OF BORON DEFICIENCY ON THE METABOLISM IN TOMATO ROOT TIPS

**ABSTRACT** - Variations in growth, total soluble sugars, mono and polyphenols, proteins and ribonucleic acids were studied in root tips of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Campbell 33) submitted to boron deficiency for 0, 2, 4, and 6 days. From the second day onwards, boron deficiency reduced growth of the plants and also the concentration of total soluble sugars (a fact probably associated with the increased synthesis of structural material) and monophenols (a phenomenon associated to the increased oxidation of these compounds). Polyphenols, proteins and RNA were increased in the boron-deficient root tips. Boron may act more directly on the ribonucleic acid metabolism than on protein metabolism.

Index terms: mineral nutrition, *Lycopersicon esculentum*.

## INTRODUÇÃO

Os sintomas externos de deficiência de boro em raízes de tomateiro podem ser detectados em 24 horas e consistem na cessação do alongamento dentro de três ou seis horas, seguido por escurecimento, possivelmente associado ao aparecimento de compostos fenólicos oxidados (Watanabe et al. 1964), e intensa proliferação de raízes secundárias. Os primeiros sintomas internos também se desenvolvem em 24 horas e são mais evidentes no primeiro centímetro da região pós-meristemática, parecendo ocorrer desintegração dos protoplastos do córtex (Albert & Wilson 1961, Kouchi & Kumazawa 1975).

Verificou-se que o alongamento celular nas raízes cessa antes do decréscimo no conteúdo de ARN, indicando um metabolismo ativo nessas células (Albert 1965). Como a adição de certas bases nitrogenadas pode prevenir o aparecimento dos

sintomas de deficiência, e certas bases análogas podem induzir esses sintomas, este fato parece indicar que o boro esteja envolvido, em algum aspecto, na síntese e/ou utilização de bases nitrogenadas e no metabolismo do ARN (Albert 1965).

As diferenças em carboidratos e proteínas no ápice da raiz, resultantes da deficiência de boro, parecem refletir um efeito sobre a maturação dos tecidos, incluindo a promoção de raízes laterais (Yih & Clark 1965). Mais recentemente, Cohen (1979) demonstrou que há um decréscimo contínuo na síntese e acúmulo de proteínas em raízes de abóbora, após seis horas sob deficiência de boro, e que esse decréscimo continua progressivamente durante 12, 18 e 24 horas, concluindo que o suprimento contínuo do elemento é necessário para a síntese de proteínas.

Nesse experimento, procurou-se estudar as variações nos teor de açúcares totais, fenóis di- e triidroxílicos (monofenóis), fenóis catequins (polifenóis), proteínas e ácidos ribonucléicos em pontas de raízes de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Campbell 33), submetido à deficiência de boro por diferentes períodos de tempo, de modo a poder visualizar alguns dos aspectos metabólicos nos quais esse elemento possa estar envolvido.

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 29 de dezembro de 1982.

<sup>2</sup> Eng.<sup>o</sup> Agr.<sup>o</sup>, M.Sc., Dep. de Biol. Vegetal - Univ. de Brasília, Caixa Postal 150381, CEP 70919 - Brasília, DF.

<sup>3</sup> Em Curso de Mestrado em Fisiol. Vegetal da Univ. de Viçosa, Viçosa, MG.

### MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Campbell 33), foram colocadas para germinar, por 15 dias, em areia, e posteriormente, transferidas para solução nutritiva completa de Johnson et al. (1957) (0,27 ppm de boro), com arejamento constante. Transcorridos 15 dias de crescimento em solução, foram selecionadas as plantas mais uniformes, quanto ao sistema radicular e parte aérea, para a indução dos tratamentos que consistiram em deficiência de boro por períodos de 0, 2, 4 e 6 dias, acompanhados dos respectivos controles em solução completa.

Após os tempos estabelecidos, as plantas foram colhidas, determinando-se o peso da matéria fresca total e retirando-se rapidamente 1 a 2 centímetros das extremidades das raízes, que foram pesadas e usadas nas análises. Determinou-se também o peso da matéria seca total das plantas após secagem em estufa de circulação forçada, a 80°C, por 48 horas.

A seqüência de extração e separação compreendeu homogeneização das pontas de raízes com etanol 80% a quente, centrifugação a 2.000 rpm por 10 minutos, evaporação do extrato etanólico em evaporador rotativo, conforme apresentado por Beever (1976). Nos extratos resultantes foram determinados açúcares solúveis totais (pela reação de antrona, Koehler 1976), fenóis di- e triidroxílicos (monofenóis) (Forrest & Bendall 1969), fenóis catequins (polifenóis) (Swain & Goldstein 1964), proteínas (pelo método de microbiureto de Goa 1953) e ARN (pela reação com orcinol, Clark Junior 1964). Os padrões utilizados foram, respectivamente, glucose (0,1 mg/ml), pirogalol (0,01 mg/ml), mistura 1:1 de pirogalol e resorcinol (0,02 mg/ml), caseína (1,0 mg/ml) e mistura de nucleotídeos (0,04 mg/ml).

O delineamento estatístico foi de blocos inteiramente casualizados com três plantas por parcela e quatro repetições.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os sintomas externos da deficiência de boro foram evidenciados no quarto dia de tratamento, caracterizando-se por raízes espessadas, quebradiças e com intenso escurecimento das extremidades, além do aparecimento de pequenas e grossas raízes secundárias. Na parte aérea, houve a morte do meristema apical também acompanhada de escurecimento; as folhas mais jovens apresentavam-se com aspecto coriáceo e com pecíolos quebradiços. Kouchi & Kumazawa (1976) e Odhnoff (1957) admitem que o enfraquecimento dos pecíolos e caule seja devido a uma desorganização, sem alteração de composição, da parede celular e da lamela média.

A acentuada redução do crescimento, em termos da produção tanto de matéria fresca (Fig. 1) quanto de matéria seca (Fig. 2), é um indicativo de que a planta deve ser continuamente provida de boro, por ser este um elemento imóvel no floema. Essa redução do crescimento já se faz notar a partir do segundo dia de deficiência, o que mos-

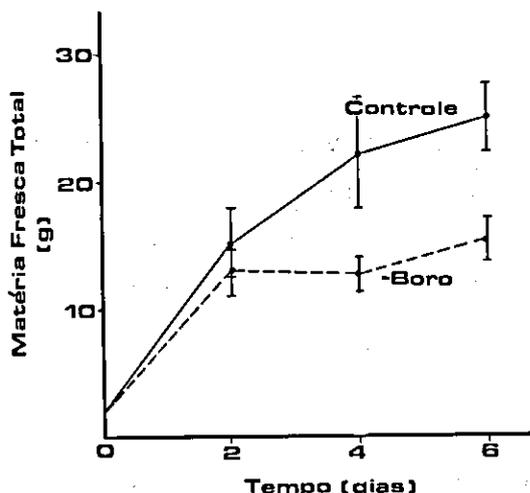


FIG. 1. Produção de matéria fresca total das plantas nos diferentes períodos de tratamento.

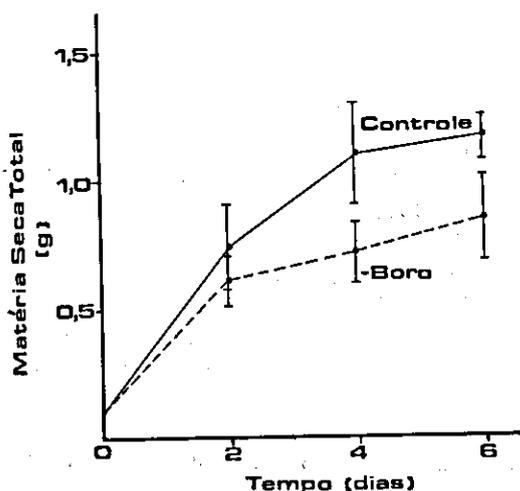


FIG. 2. Produção de matéria seca total das plantas nos diferentes períodos de tratamento.

tra que plantas deficientes cessam muito rapidamente o seu crescimento (Cohen & Lepper Junior 1977, Kouchi & Kumazawa 1975, Cohen & Albert 1974).

O teor de açúcares solúveis totais nas pontas das raízes, principalmente após dois e quatro dias sob deficiência, sofreu redução em relação ao controle (Fig. 3). Aos seis dias, os dois tratamentos tenderam a se igualar, sugerindo que, na solução completa, o nível inicial de boro (0,27 ppm) já era insuficiente para as exigências das plantas. Gauch & Dugger (1953) e Mitchell et al. (1953) sugeriram que um dos efeitos primários da deficiência de boro seria a redução da translocação de carboidratos para os pontos de crescimento, que estaria associado com a ausência do efeito de dreno nos meristemas, provocado pela cessação do crescimento (Skok 1956), ou por um desvio da rota metabólica desses açúcares no sentido de formação de compostos fenólicos em excesso (Lee & Aronoff 1967). Como pontas de raízes deficientes, e do mesmo tamanho que o controle, apresentassem peso da matéria fresca maior, é possível que a deficiência promova um desvio no metabolismo dos açúcares no sentido de uma maior síntese de carboidratos estruturais.

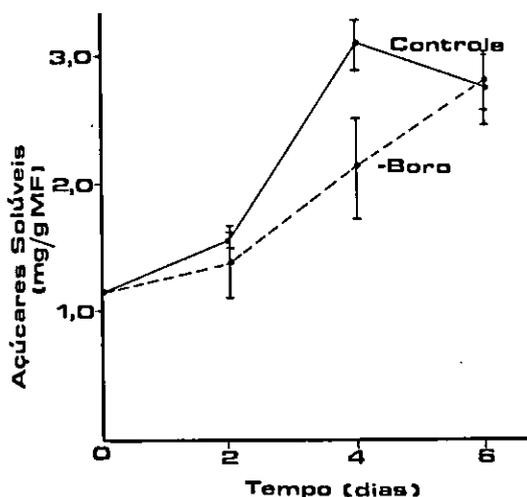


FIG. 3. Teores de açúcares solúveis totais nas pontas de raízes nos diferentes períodos de tratamento. (MF = matéria fresca das pontas de raízes)

Monofenóis di- e trihidroxílicos tiveram seus teores reduzidos em função da deficiência de boro (Fig. 4). Após seis dias de tratamento, tanto nas plantas controle quanto naquelas submetidas à deficiência, os níveis desses fenóis foram drasticamente reduzidos, sugerindo a influência de algum outro fator. É possível também que, com esse tempo, os níveis de fenóis caíam naturalmente em função de sua oxidação e quinonas, promovendo o escurecimento do tecido. Como o método de determinação baseia-se na reação com os grupamentos hidroxílicos, o resultado final parece sugerir uma diminuição em seus níveis. Portanto, a redução, ao invés do aumento, desses monofenóis nas pontas das raízes deficientes em boro pode ser explicada por uma maior oxidação ou pelo aumento dos fenóis catequins (polifenóis, Fig. 5), dos quais são precursores. Desse modo, o escurecimento provocado pela deficiência do boro estaria mais associado ao aumento da oxidação dos fenóis, principalmente monofenóis normalmente encontrados no tecido, do que ao aumento de sua síntese. Estes compostos, uma vez sintetizados, poderiam, sob deficiência de boro, ser mais rapidamente convertidos a fenóis catequins que, então, se acumulariam (Fig. 5).

Shkol'nik et al. (1964 e 1972) admitem que a

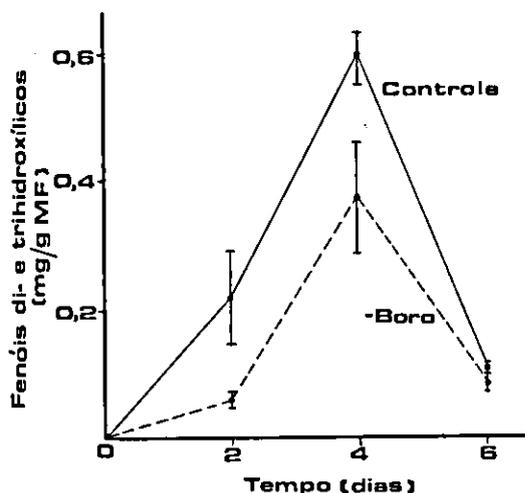


FIG. 4. Teores de fenóis di- e trihidroxílicos nas pontas de raízes nos diferentes períodos de tratamentos.

capacidade de acumular ou não compostos fenólicos, quando da deficiência de boro, esteja associada ao grau de sensibilidade das raízes à auxina. Um excesso de ácido 3-indolacético (AIA) (talvez ligado à redução da atividade de AIA oxidase) provavelmente seja a causa de intensificação da rota pentose fosfato e, em consequência da via do ácido shiquímico em dicotiledôneas, o que não é observado em cereais, que são mais resistentes a altas concentrações de AIA.

O teor de proteínas ao longo dos seis dias sob deficiência apresentou aumento, porém o padrão em relação ao controle não foi alterado (Fig. 6). Novamente ao sexto dia, em ambos os tratamentos, houve acentuado aumento nas proteínas totais, que pode ser um indicativo de que tenha ocorrido severa deficiência de boro e/ou de outro micronutriente. É interessante observar que, no segundo dia, as diferenças entre os tratamentos foram mais acentuadas, apesar de o crescimento já ter sido reduzido (Fig. 1 e 2). Isso pode representar um efeito de diluição pelo maior crescimento (divisão e expansão celular) no tecido suprido de boro. Assim, como a deficiência de boro reduz sensivelmente o crescimento em raízes de tomateiro, é possível que esse efeito seja ao nível da divisão e/ou expansão da parede celular (matéria seca) e

não sobre a síntese protéica, como relatado por Cohen (1979) em raízes de abóbora. De qualquer modo, as alterações na síntese de proteínas parecem ocorrer em seis horas (Cohen 1979), de tal maneira que, nas condições desse experimento, é pouco provável que, após 48 horas, as diferenças observadas sejam a causa primária da deficiência de boro.

Até o quarto dia, ambos os tratamentos apresentaram uma diminuição no teor de ácidos ribonucleicos, sendo mais acentuada no controle (Fig. 7). Nesse período, a deficiência de boro parece ter mantido mais alto os níveis de ARN, o que poderia explicar, em parte, o aumento no teor de proteínas (Fig. 6). Portanto, para essa variedade de tomate, a deficiência do boro parece estar mais associada ao metabolismo de ARN, do que diretamente ao de proteínas. Entretanto, os dados não são suficientes para atribuir a esse fato o efeito primário do boro, como sugerido por Albert (1965) e Johnson & Albert (1967).

Pelos resultados deste e de outros trabalhos citados, vários são os papéis atribuídos ao boro, mas sem conclusões definitivas. É bem provável que, em vista das implicações metabólicas resultantes da deficiência, esse elemento esteja relacionado com um passo inicial de uma seqüência de eventos que

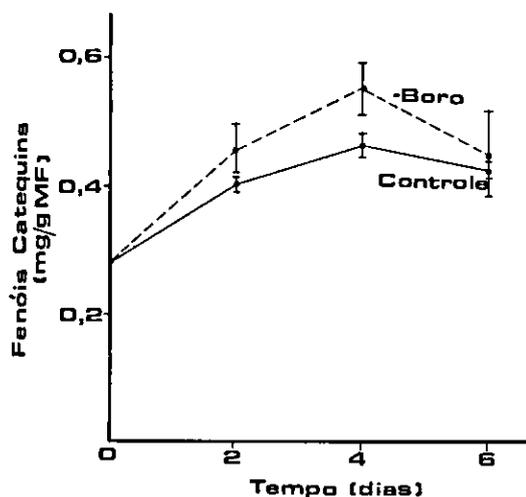


FIG. 5. Teores de fenóis catequins nas pontas de raízes nos diferentes períodos de tratamento.

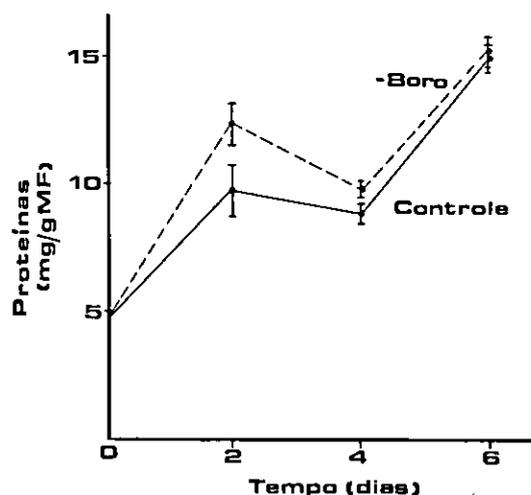


FIG. 6. Teores de proteínas nas pontas de raízes nos diferentes períodos de tratamento.

irão conduzir àqueles citados. Seu papel regulador na síntese e/ou manutenção de auxina (ou outro regulador do crescimento) poderia ser mais explorado.

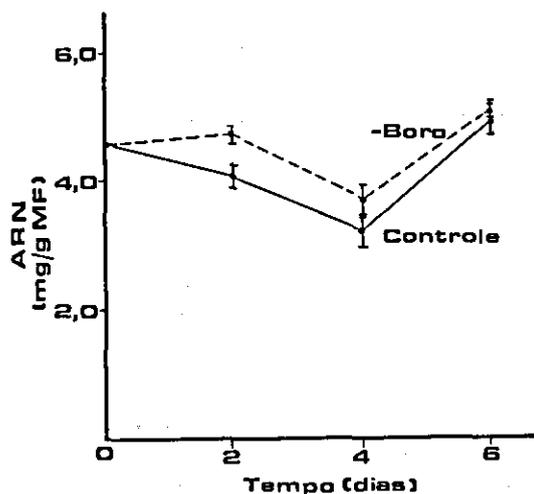


FIG. 7. Teores de ácidos ribonucleicos de pontas de raízes nos diferentes períodos de tratamento.

#### REFERÊNCIAS

- ALBERT, L.S. Ribonucleic acid content, boron deficiency symptoms, and elongation of tomato root tips. *Plant Physiol.*, 40:649-54, 1965.
- ALBERT, L.S. & WILSON, C.M. Effect of boron on elongation of tomato root tips. *Plant Physiol.*, 26:244-51, 1961.
- BEEVERS, L. Senescence. In: SAN PIETRO, A., ed. *Experimental plant physiology*. Mosby, 1976. p.69-74.
- CLARK JUNIOR, J.M. *Experimental biochemistry*. San Francisco, W.H. Fruman, 1964. 129p.
- COHEN, M.S. Effect of boron on protein synthesis in intact squash roots (Abs.). *Plant Physiol.*, 63:163, 1979.
- COHEN, M.S. & ALBERT, L.S. Autoradiographic examination of meristems of intact boron deficient squash roots treated with tritiated thymidine. *Plant Physiol.*, 54:766-8, 1974.
- COHEN, M.S. & LEPPER JUNIOR, R. Effect of boron on cell elongation and division in squash roots. *Plant Physiol.*, 59:884-7, 1977.
- FORREST, G.I. & BENDALL, D.S. The distribution of polyphenols in the tea plant (*Camellia sinensis* L.). *Biochem. J.*, 113:741-55, 1969.
- GAUCH, H.G. & DUGGER, W.M. The role of boron in the translocation of sucrose. *Plant Physiol.*, 28:457-67, 1953.
- GOA, J. Determination of protein by microbiuret method. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 5:218-22, 1953.
- JOHNSON, C.M.; STOUT, P.R.; BROYER, T.C. & CARLTON, A.B. Comparative chlorine requirements of different plant species. *Plant Soil*, 8:337-53, 1957.
- JOHNSON, S.L. & ALBERT, L.S. Effect of selected nitrogen bases and boron on the ribonucleic acid content, elongation and visible deficiency symptoms of tomato root tips. *Plant Physiol.*, 42:1307-9, 1967.
- KOEHLER, L.H. Differentiation of carbohydrates by antrone reaction, rate and color intensity. *Anal. Chem.*, 24:1576-91, 1976.
- KOUCHI, H. & KUMAZAWA, K. Anatomical responses of root tips to boron deficiency. I. Effects of boron deficiency on elongation of root tips and their morphological characteristics. *Soil Sci. Pl. Nutr.*, 21:21-8, 1975.
- KOUCHI, H. & KUMAZAWA, K. Anatomical responses of root tips to boron deficiency. III. Effect of boron deficiency on sub-cellular structure of root tips, particularly on morphology of cell wall and its related organelles. *Soil Sci. Pl. Nutr.*, 22:53-71, 1976.
- LEE, S.G. & ARONOFF, S. Boron in plants: a biochemical role. *Science*, 158:798-9, 1967.
- MITCHELL, J.W.; DUGGER JUNIOR, W.M. & GAUCH, H.G. Increased translocation of plant-growth-modifying substances due to application of boron. *Science*, 118:345-55, 1953.
- ODHNOFF, C. Boron deficiency and growth. *Physiol. Pl.*, 10:984-1000, 1957.
- SHKOL'NIK, M.Y.; KRUPNIKOVA, T.A. & DAVYDOVA, V.N. Effect of a boron deficiency on content of hydroxycinnamic acids in maize leaves. *Soviet. Plant Physiol.*, 19:1052-4, 1972.
- SHKOL'NIK, M.Y.; KRUPNIKOVA, T.A. & DMITRIEVA, N.N. Influence of boron deficiency on some aspects of auxin metabolism in the sunflower and corn. *Soviet. Plant Physiol.*, 11:164-9, 1964.
- SKOK, J. Relationship of boron nutrition to radiosensitivity of sunflower plants. *Plant Physiol.*, 31:XII, 1956. Supplement.
- SWAIN, T. & GOLDSTEIN, J.L. The quantitative analyses of phenolic compounds. In: Pridham, J.B. ed., *Methods in polyphenol chemistry*. Oxford, Pergamon Press, 1964. p.131-45.
- WATANABE, R.; CHORNEY, W.; SKOK, J. & WENDER, S.H. Effect of boron deficiency on polyphenol production in the sunflower. *Phytochemistry*, 3:391-3, 1964.
- YIH, R.Y. & CLARK, H.E. Carbohydrate and protein of boron deficient tomato root tips in relation to anatomy and growth. *Plant Physiol.*, 40:312-5, 1965.