

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DO PAPEL
FISIOLÓGICO E BIOQUÍMICO DO
POTÁSSIO EM PLANTAS DE FEIJÃO

(*Phaseolus vulgaris* L., cultivar Goiano Precoce)

Marcio A. Cattini - Bel. em Ciências Biológicas

Orientador: Prof. Dr. Otto J. Crocomo

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura
"Luiz de Queiroz" para obtenção do título de Mestre

PIRACICABA - SP

1974

Este trabalho e dedicado

a meus pais e irmãos,
a família de Luiz Porta e,
em especial, a minha esposa

Leonília

A G R A D E C I M E N T O S

Ao Prof. Otto J. Crocomo, pela acolhida, pelo irrestrito apoio e pela orientação.

Agradeço ainda às seguintes pessoas e instituições pela ajuda recebida durante a execução do presente trabalho:

- Dr. Paulo Roberto Massi Pereira
- Sra. Lieni L. Porta Pereira

- Dr. Ladaslav Sodek
- Dr. Sidival Lourenço
- Dr. Epaminondas S.B. Ferraz
- Dr. Luis Carlos Basso
- Dr. Nilson A. Villa Nova
- Eng. Agr. Vírgilio F. Nascimento Filho
- Eng. Agr. Edvaldo A. Zago
- Tec. Lineu Domingos M. Delfini
- À cidade de Piracicaba, representada pela família do Sr. Edgard Gorga.

- Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), nas pessoas de seu Diretor, Prof. Admar Cervellini, e de todos os seus funcionários.

- À Comissão Nacional de Energia Nuclear
- À CITROESTE - Agro-Industrial S.A. - Brasília-DF

- Aos colegas do CENA

I N D I C E

	<u>página</u>
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	03
3. MATERIAL E MÉTODOS	05
4. RESULTADOS	15
5. DISCUSSÃO	41
6. CONCLUSÕES	54
7. RESUMO	56
8. SUMMARY	58
9. LITERATURA CITADA	60

1. INTRODUÇÃO

A essencialidade de um elemento, para uma determinada espécie vegetal deve ser verificada através de critérios, tais como a impossibilidade dela completar o seu ciclo na ausência do referido elemento, não poder o mesmo ser substituído completamente por outro em suas funções, estar diretamente ligado à ativação de uma enzima, ou sistema enzimático essencial à planta (GAUCH, 1972). O potássio, um dos elementos essenciais às plantas, tem sido objeto de estudos por várias décadas, e sob os mais variados aspectos, em bactérias aeróbicas e anaeróbicas, leveduras, fungos, plantas e também em animais superiores (EVANS e SORGER, 1966). Observações têm sido feitas quanto ao seu papel na absorção de outros nutrientes, na ativação de enzimas, na síntese e degradação de vários compostos, e outros. A sua deficiência (e às vezes excesso) causa profundas modificações na morfologia, anatomia, fisiologia e bioquímica das plantas.

Uma técnica que tem se mostrado eficiente para a compreensão da função desempenhada por um determinado elemento na vida de uma planta é cultivá-la sob condições controladas, de modo que se

possa diminuir ao máximo o número de variáveis que sobre ela possam exercer influência. Assim, ao se fazer variar os teores do elemento a ela fornecido pode-se descobrir as funções do mesmo, observando-se as modificações do comportamento da planta em decorrência de tal variação.

O estudo de algumas modificações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas é o objetivo do presente trabalho. A planta teste foi o feijão (*Phaseolus vulgaris*, cultivar Goiano Precoce) cultivado em soluções nutritivas contendo concentrações crescentes de potássio.

Os aspectos abordados na análise dos resultados obtidos foram os sintomas visuais de deficiência, algumas interações iônicas na absorção de nutrientes, as variações nos teores de certos aminoácidos e das aminas derivadas de alguns deles, a intensidade de síntese de proteínas e o metabolismo de lisina-¹⁴C. Possíveis correlações entre as doses de potássio fornecidas às plantas e os teores de alguns dos compostos citados também foram pesquisados.

2. REVISÃO DA LITERATURA

A deficiência de potássio em plantas superiores revela-se de modo bastante característico. Ela se manifesta por diminuição generalizada no crescimento da planta, aparecendo manchas acinzentadas irregulares nos limbos das folhas, seguidas de clorose. Com o tempo, algumas áreas tomam a coloração pardo-escura e terminam necrosadas (EVANS e SORGER, 1966; COBRA NETTO *et al.*, 1971). As raízes apresentam-se finas e em pouca quantidade (COBRA NETTO, 1971).

A influência sobre o crescimento manifesta-se mais drasticamente em raízes tuberosas, e principalmente nas que acumulam amido, do que nas que acumulam proteínas (JACKSON e VOLK, 1968). LUBIN e ENNIS (1964), trabalhando com estirpes mutantes que não acumulam potássio (PA₂₀₁, B₁₃₆ e B₂₀₇), verificaram que, na ausência desse elemento, havia paralização da divisão celular, do crescimento das células e também da síntese de proteínas.

Outros distúrbios são ainda observados na deficiência de potássio. As plantas deficientes neste elemento passam a absorver

mais ativamente o nitrogênio (MAC'GREGOR, 1961; MAC'LEOD e SUZUKI, 1967; COBRA NETTO, 1971; NGUYEN *et al.*, 1972), o magnésio e o cálcio (MAGNITSKI, 1961; MUNSON, 1968). O aumento da absorção de nitrogênio traduz-se por um acúmulo de compostos nitrogenados livres representados por aminoácidos, amidas e NH_3 (WALL, 1940; EATON, 1952; RICHARDS e BERNER, 1954; BARKER e BRADFELD, 1963; EVANS e SORGER, 1966; TEEL, 1968; HOFFMAN e SAMISH, 1971; NGUYEN *et al.*, 1972). Além desses compostos nitrogenados, o acúmulo de certas aminas como putrescina, agmatina e N-carbamil-putrescina, (NCP) é bastante significativo (SMITH, 1963; SMITH, 1967; HOFFMAN e SAMISH, 1971; SMITH, 1973) variando, no caso de putrescina, de 45 $\mu\text{g/g}$ de peso verde em plantas normais até 350 $\mu\text{g/g}$ de peso verde, em plantas de *Sesamum indicum* deficientes em potássio (CROCOMO *et al.*, 1970). BAR-AKIVA (1971) e HOFFMAN e SAMISH (1971) admitem a possibilidade de se poder correlacionar o estado nutritivo de uma planta, em relação ao potássio, com o teor de putrescina contido na mesma.

Além de acumular todas essas substâncias nitrogenadas solúveis, as plantas deficientes em potássio absorvem menos água (EATON, 1952) o que contribui para tornar o suco celular altamente concentrado e carregado de substâncias tóxicas, tais como as aminas em altas concentrações (SMITH, 1967).

Complementando o quadro de distúrbios funcionais, as plantas deficientes em potássio tendem a diminuir a taxa de síntese de proteínas (EATON, 1952; LUBIN e ENNIS, 1964; NITSOS e EVANS, 1966; BOULTER, 1970), bem como alterar o metabolismo de certos aminoácidos, como, por exemplo, a lisina (RICHARDS e BERNER, 1954). Como resultado de todos esses distúrbios fisiológicos e bioquímicos, a produção cai sensivelmente (MAC'GREGOR, 1961).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Sementes

Foram utilizadas sementes de feijão *Phaseolus vulgaris*, cultivar Goiano precoce, fornecidas pelo Departamento de Agricultura da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP.

3.1.1. Tratamento das sementes

As sementes, após lavagem com detergente e água corrente, foram esterilizadas com solução a 4% de hipoclorito de sódio, na qual permaneceram imersas durante 60 minutos. A seguir foram lavadas com água destilada e envolvidas por uma película de penta-cloro-nitro-benzeno (PCNB), para se evitar a infecção por fungos durante a germinação.

3.1.2. Germinação

As sementes foram germinadas à temperatura de aproximadamente 30°C, em areia lavada e autoclavada, regando-se com solução nu-

tritativa nº 2 de *HOAGLAND e ARNON (1950)*, diluída a 10%.

3.1.3. Transplante

Nove dias após a germinação, as plantas foram transferidas para bandejas de polietileno com 4 l de solução nutritiva, sob aeração constante, em casa de vegetação.

3.2. Soluções Nutritivas

Foram utilizadas soluções nutritivas de *HOAGLAND e ARNON (1950)*, completa, nº 2, deficiente em potássio e com excesso de potássio. Nas soluções deficientes, o KNO_3 foi substituído por NH_4NO_3 , balanceando-se de modo a deixar constante o nível de nitrogênio. Nas soluções contendo excesso de potássio acrescentou-se KCl à solução completa (Tabela 1). As soluções utilizadas continham 0, 1, 2, 4, 6 (completa), 8 e 10 mmoles de K por litro de solução (que no presente trabalho serão designadas, respectivamente por 0 mM, 1 mM, 2 mM, 4 mM, 6 mM, 8 mM e 10 mM). Estas soluções (Tabela 1) foram renovadas a cada 15 dias. A aeração das soluções foi feita introduzindo-se, em cada uma das bandejas, um tubo de polietileno fechado numa extremidade e perfurado com agulha bem fina em toda a sua extensão, através do qual se injetou ar comprimido.

3.3. Extratos

3.3.1. Extrato verde

Para a preparação do extrato de folhas verdes, destinado à análise dos aminoácidos, aminas e proteínas, foi seguido, em linhas gerais, o processo descrito por *CROCOMO et al., (1970)*. Eram colhidas, semanalmente, 5 g de matéria verde por tratamento. A seguir o material era lavado com água destilada e seco em papel toalha, triturado em almofariz na presença de etanol a 80%, em ebulição, e cen-

Tabela 1 - Composição das soluções nutritivas - mililitros das soluções estoque adicionados por litro de solução nutritiva.

Sais	Solução estoque concentração	Tratamentos							
		0	1	2	4	6 ^(a)	8	10	(mMK)
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	M	1	1	1	1	1	1	1	1
KNO_3	M	-	1	2	4	6	6	6	6
NH_4NO_3	M	3	2,5	2	1	-	-	-	-
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	M	4	4	4	4	4	4	4	4
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	M	2	2	2	2	2	2	2	2
KCl	M	-	-	-	-	-	2	4	4
Micro ^(b)	-	1	1	1	1	1	1	1	1
FeEDTA ^(c)	-	1	1	1	1	1	1	1	1

(a) - solução completa de *HOAGLAND e ARNON (1950) nº 2*

(b) -

Micronutrientes	Concentração em g/l
H_3BO_3	2,86
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1,81
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,08
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,22
H_2MoO_4	0,02

(c) - A concentração de ferro nas soluções nutritivas foi de 24,9 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ por litro, adicionada sob a forma de FeEDTA (*JACOBSON, 1951*).

trifugado por 10 minutos a 5600 x g. Utilizaram-se 10 ml de etanol por grama de matéria verde. O sobrenadante era tratado com igual volume de CCl_4 para extração de pigmentos e lipídeos. O precipitado era utilizada para extração e determinação quantitativa de proteínas. O extrato alcoólico assim preparado era percolado através de uma coluna de resina de troca iônica do tipo AG 50W-X8, H^+ , 200-400 mesh, com capacidade de troca de 1,7 meq/ml de resina embebida.

3.3.2. Extrato seco

Foram colhidas, semanalmente, de 11 a 14 g de material [folhas] de cada tratamento, secando-se em estufa a $60-70^\circ\text{C}$ até peso constante. O material era em seguida triturado em almofariz e utilizado para dosagem de N, P, K, Ca e Mg.

3.4. Cromatografia em resina de troca iônica

3.4.1. Preparo da coluna de resina

Uma quantidade adequada de resina foi agitada com água destilada e desionizada, desprezando-se o sobrenadante contendo partículas muito finas. A seguir montou-se uma bateria de sete colunas (uma para cada tratamento), de modo que a coluna líquida acima da coluna de resina ficasse com uma altura constante de aproximadamente 5 cm. Após a montagem da bateria processava-se a saturação da resina com H^+ , fazendo-se passar HCl 2N através da mesma até não haver alteração no pH da solução percolada. Passava-se, a seguir, água desionizada através da coluna, até não haver alteração no pH da água percolada, para eliminar-se o excesso de HCl .

3.4.2. Percolação do extrato e eluição das frações

Após a percolação do extrato, fazia-se passar etanol a 80% para retirar-se o restante das substâncias não adsorvidas.

A fração "aminoácidos" era eluída com 70 ml de NH_4OH N. A fração "aminas" era dividida em duas, eluindo-se inicialmente N-carbamil putrescina (NCP) + putrescina, com 50 ml NH_4OH 5 N e em seguida putrescina + agmatina com 50 ml de solução saturada de $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (SMITH e RICHARDS, 1962). As três frações assim preparadas eram evaporadas em banho de água à temperatura de 35-40°C, auxiliado por um jato de ar comprimido sobre a superfície do líquido. Após a evaporação até resíduo sólido, as frações eram retomadas da seguinte maneira:

Fração aminoácidos - 1,0 ml de isopropanol a 10% + 2 gotas de HCl concentrado

Fração aminas - 1,0 ml de H_2SO_4 0,05 N.

As amostras foram mantidas em refrigerador até o momento de análise cromatográfica em papel de filtro.

3.5. Cromatografia em papel de filtro

3.5.1. Aminoácidos

3.5.1.1. Determinação qualitativa

Os aminoácidos foram identificados por cromatografia bidimensional em papel de filtro Whatman nº 3MM, usando-se como primeiro solvente a mistura Fenol-Água (75:25, peso/vol) e como segundo o solvente Butanol-Ácido Acético-Água (90:10:29, vol/vol/vol). Após cada desenvolvimento, os cromatogramas eram secos em câmaras de secagem da Precision Scientific, à temperatura de 70°C até completo desaparecimento do odor característico de cada um dos solventes.

Como revelador utilizou-se o reagente "ninhidrina-cádmio" de ATFIELD e MORRIS (1961), cuja composição é a seguinte: 100 mg de acetato de cádmio, 1 g de ninhidrina, 2 ml de ácido acético glacial, 10 ml de água destilada e 100 ml de acetona. Para a identificação

dos aminoácidos utilizou-se um cromatograma padrão desenvolvido juntamente com cada bateria de cromatogramas das amostras.

3.5.1.2. Determinação quantitativa

Após a identificação, as manchas eram recortadas e eluídas em 3 ml de metanol absoluto, permanecendo no escuro durante 14 horas. As absorbâncias foram lidas a 500 nm em espectrofotômetro Coleman Jr. II. Para cada aminoácido foi feita uma reta padrão.

A dosagem dos aminoácidos arginina e ornitina foram feitas segundo os métodos descritos por *GILBOE e WILLIAMS (1956)* e *CHINARD (1952)*, respectivamente.

3.5.2. Aminas

3.5.2.1. N-carbamilputrescina e putrescina

3.5.2.1.1. Determinação qualitativa

As aminas NCP e putrescina foram identificadas por cromatografia monodimensional ascendente em papel de filtro, segundo *CROCCO e ROSSI (1967)*. Os cromatogramas foram desenvolvidos tres vezes em Butanol-Metiletilcetona-Amônia-Água (5:3:1:1, vol/vol/vol/vol) , sendo, nos intervalos, secos a 70°C, durante 30 minutos. O revelador utilizado foi uma solução de ninhidrina 1% + 8-hidoxiquinoleina 0,1% em etanol absoluto.

3.5.2.1.2. Determinação quantitativa

Após a revelação dos cromatogramas, as manchas eram recortadas e eluídas em 5 ml de tampão fosfato, pH 7,0 , 0,025 M, em etanol a 50% durante 3 horas, no escuro. As absorbâncias foram lidas a 575 nm em espectrofotômetro Beckman DB-G. Para os cálculos, foram utilizadas retas padrões.

3.5.2.2. Agmatina

A agmatina foi determinada pelo método de *SAKAGUCHI* modificado por *SMITH (1963)*.

3.6. Determinação dos elementos N, P, K, Ca e M

3.6.1. Determinação do nitrogênio total

A determinação do nitrogênio total foi feita pelo método *KJELDAHL*, conforme descrito por *MALAVOLTA (1964)*.

3.6.2. Determinação do cálcio e magnésio

Após digestão nitro-perclórica do material seco (*MALAVOLTA, 1964*), o cálcio e o magnésio foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica, utilizando-se Espectrofotômetro da EEL (Evans Electroelenium Ltd.).

3.6.3. Determinação do potássio

O potássio foi determinado por fotometria de chama, utilizando-se as mesmas reações químicas e espectrofotômetro, do item 3.6.2.

3.6.4. Determinação do fósforo

O fósforo foi determinado calorimetricamente por reação entre uma solução vanado-molíbdica (*MALAVOLTA, 1964*) com amostras da solução obtida conforme o item 3.6.2., num aparelho Klett-Sumerson, em comprimento de onda de 420 nm.

3.7. Determinação de proteína total

O precipitado da extração alcoólica do item 3.3.1. era tratado com NaOH 0,1N, empregando-se 10 ml/g de peso verde, e deixado

em repouso por uma noite, em congelador. Seguiu-se centrifugação a 5600 x g durante 10 minutos e precipitação das proteínas por ácido tricloroacético a 20%, empregando-se um volume de ácido igual ao de NaOH. Após nova centrifugação, as proteínas eram redissolvidas em NaOH 0,1N (5 ml/g de peso verde) e determinado o seu teor segundo o método do micro-biureto, conforme descrito por *ITZAHKI e GILL (1964)*.

3.8. Medida da intensidade de síntese de proteína

Para a medida da intensidade de síntese de proteína, foi utilizada a DL-lisina-1-¹⁴C (com atividade específica de 10,9 μ Ci/ μ Mol) da Calbiochem, Califórnia, USA. O tratamento das sementes, germinação e transplante dos "seedlings" para as soluções nutritivas processaram-se de modo idêntico ao dos itens 3.1.1., 3.1.2. e 3.1.3., respectivamente. No presente ensaio, foram utilizadas soluções nutritivas contendo apenas 3 diferentes níveis de potássio, correspondentes a 0, 3 e 6 mMoles de potássio por litro de solução nutritiva, preparadas de modo idêntico ao das soluções do item 3.2..

No dia seguinte ao do transplante, extraíram-se os cotilédones. Uma semana após a extração dos cotilédones, quando então já eram evidentes os primeiros sintomas de deficiência nas plantas correspondentes ao nível 0 mM de potássio, injetou-se em cada uma delas 0,25 μ Ci (5 μ l) de DL-lisina-1-¹⁴C. As plantas foram divididas em 4 grupos de 10 por tratamento, efetuando-se a colheita e preparo dos extratos nos tempos de 6, 12, 18 e 24 horas após a injeção. A partir do momento da injeção, as plantas foram mantidas em câmara de crescimento, sob luz constante, até o momento da colheita.

A injeção de lisina-¹⁴C foi feita aproximadamente a 1 cm abaixo do ponto de inserção das folhas cotiledonares (Figura 1). Foram utilizadas apenas estas folhas para análise.

Para o preparo dos extratos e dosagem da proteína total, pro

cedeu-se de modo idêntico ao descrito nos itens 3.3.1. e 3.7., respectivamente. A fração proteica foi hidrolisada com HCl 6N, a 110°C , durante 22 horas, conforme o Manual que acompanha o Analisador Automático de Aminoácidos, Beckman, modelo 120C. O mesmo aparelho foi utilizado para a análise da lisina contida no hidrolisado, bem como para o fracionamento das amostras destinadas à contagem da radioatividade. Neste caso utilizou-se ainda o coletor de frações Fractometre 200, Buchler Instruments, acoplado ao Analisador.

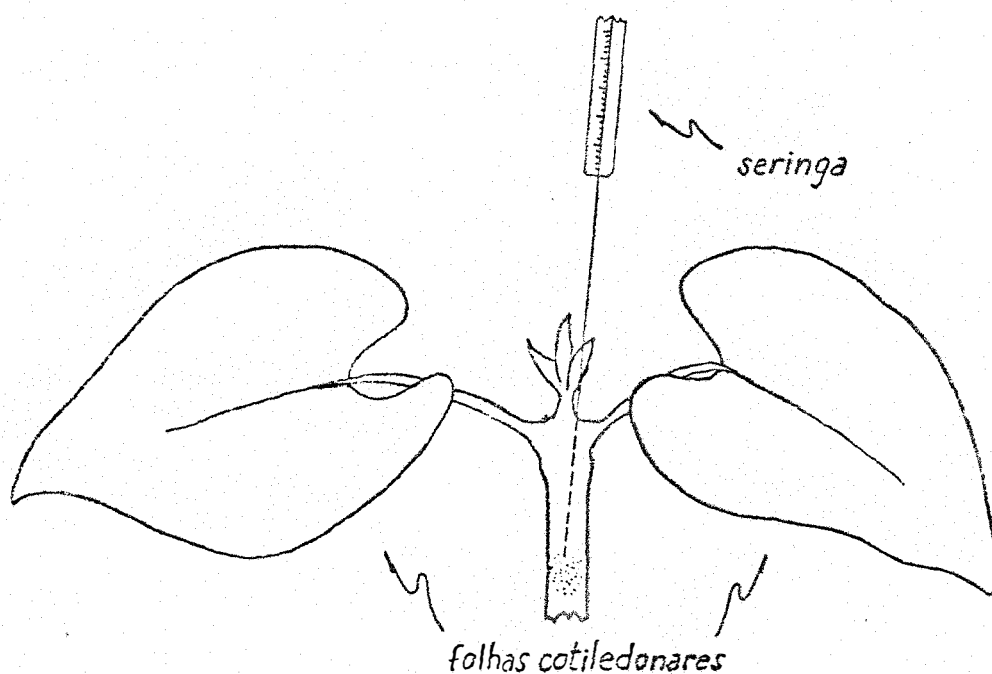


Figura 1 - Técnica utilizada para a injeção de lisina-¹⁴C nas plantas de feijão.

A contagem da radioatividade das amostras (frações alcoólica e hidrolisado de proteínas) foi efetuada diluindo-se 2 ml das mesmas em 8 ml de solução cintiladora de BRAY (1960) e utilizando-se o Contador de Cintilações, para amostras líquidas, Nuclear Chicago, série 720.

3.9. Análise Estatística

A análise dos dados foi feita segundo *PIMENTEL GOMES (1970)*.

Na análise dos teores de nutrientes em relação aos tratamentos com K, a determinação em diferentes tempos foram tomados como repetições.

As parcelas perdidas (tratamento 0 mM, 8a. semana) foram estimadas estatisticamente.

O esquema empregado para a análise de variância foi o seguinte:

Fontes de Variação	G.L.
Blocos (semanas)	7
Tratamentos	6
Resíduo	41
Total	54

A comparação entre as médias dos tratamentos foi feita através do teste de Tuckey, ao nível de 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS

4.1. Observações morfo-fisiológicas

4.1.1. Sintomas visuais

As médias dos comprimentos dos pecíolos das primeiras folhas trifolioladas de oito plantas de cada tratamento, tomadas ao acaso, evidenciaram uma nítida tendência à correlação direta com os teores de potássio das soluções nutritivas correspondentes (Figuras 2 e 4). Sintomas visuais, característicos da deficiência de K, começaram a ser observados nas plantas correspondentes ao tratamento 0 mM, cerca de uma semana após o transplante para as soluções nutritivas. Com o correr do tempo, o quadro sintomático constituía-se de manchas amareladas nos bordos das folhas evoluindo posteriormente para necroses, sistema radicular pouco desenvolvido e plantas de tamanho reduzido (Figura 5) e o não pegamento das flores. No tratamento 1 mM tais sintomas somente se manifestaram no final do ciclo vegetativo. No entanto, para este tratamento, o pegamento das flores e a produção de sementes praticamente não foram afetados. As plan-

tas correspondentes aos demais tratamentos, considerados deficientes (2 mM e 4 mM) em relação à completa de *HOAGLAND e ARNON (1950)*, nº 2, não apresentaram sintomas visuais de deficiência de potássio.

A degenerescência das plantas do tratamento 0 mM, não permitiu que elas completassem 8 semanas de idade, a contar da data do transplante para as soluções nutritivas.

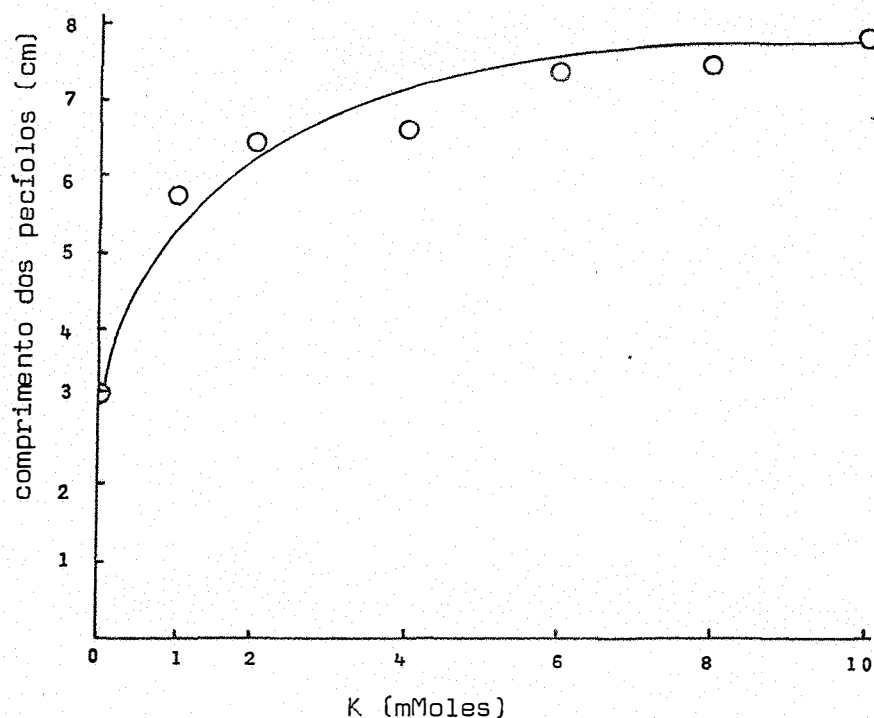


Figura 2 - Efeito do potássio sobre o comprimento do pecíolo da primeira folha trifoliolada.

4.1.2. Porcentagem de matéria seca das folhas

As porcentagens de matéria seca variaram continuamente mostrando uma tendência à correlação inversa com as doses de K fornecidas. Entre os tratamentos 0 mM (20,32%) e 10 mM (10,43%) houve uma diferença de aproximadamente 10% (Figura 3).

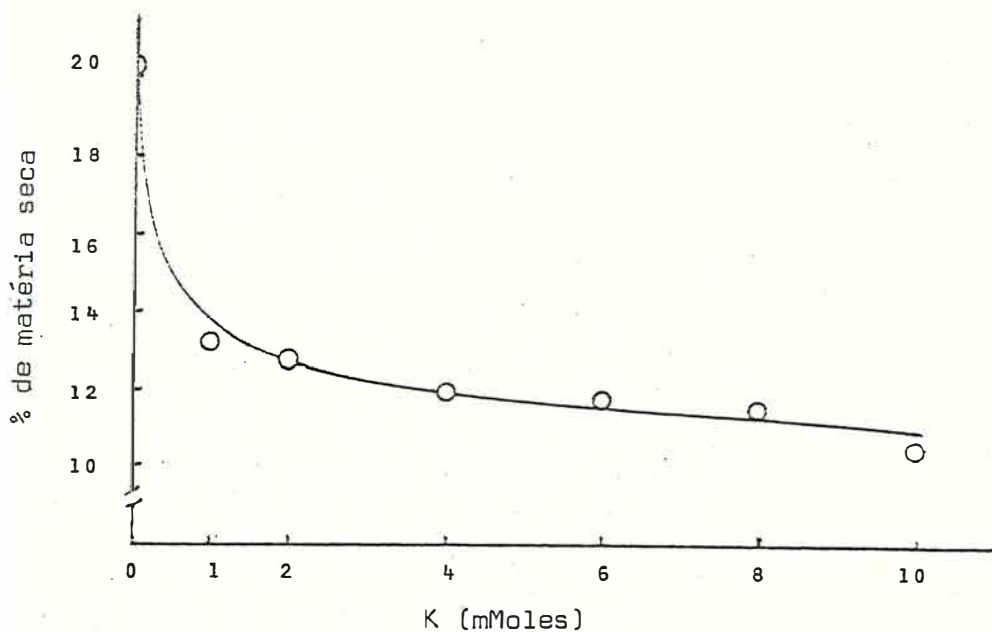


Figura 3 - Efeito do teor de potássio na produção de matéria seca

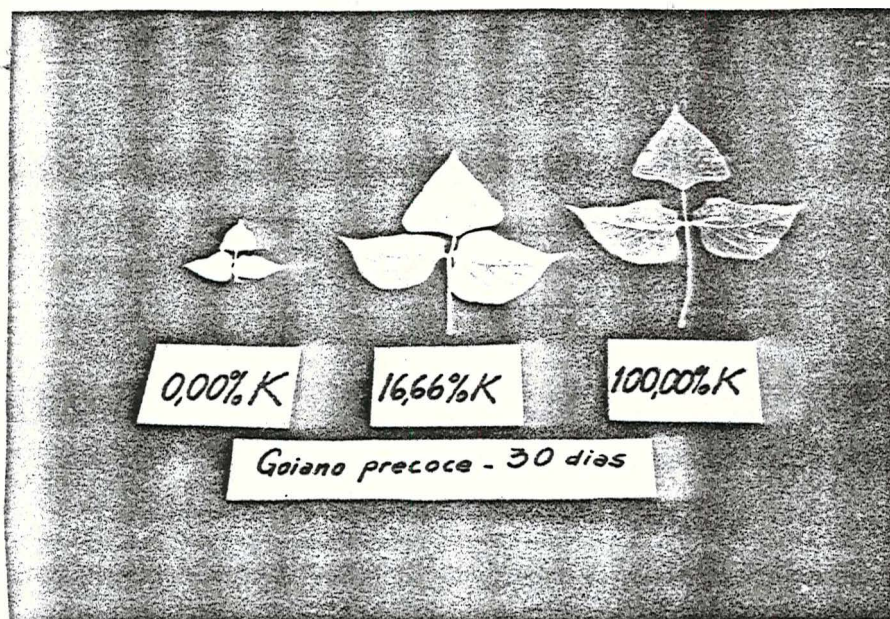


Figura 4 - Efeito do potássio sobre o crescimento. Observar diferenças entre os comprimentos dos pecíolos da primeira folha trifoliolada.

0,0% K = 0 mM K
16,66%K = 1 mM K
100,00%K = 6 mM K

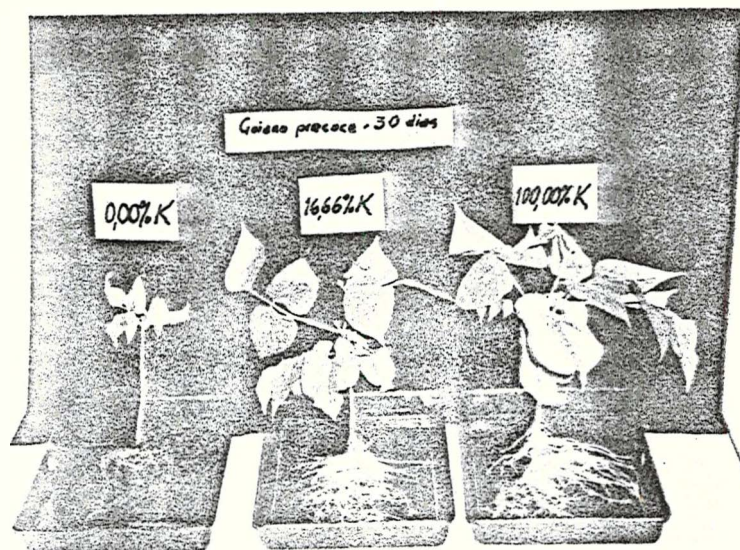


Figura 5 - Efeito do potássio sobre o desenvolvimento do sistema radicular e o tamanho das plantas.

0,0 % K = 0 mM K

16,66 % K = 1 mM K

100,00 % K = 6 mM K

4.2. Análise da Matéria Seca

4.2.1. Nitrogênio total

Os níveis de nitrogênio encontrados nas plantas relativas ao tratamento 0 mM foram significativamente mais elevados do que nos demais tratamentos. Houve ainda diferença entre os tratamentos 1 mM e 8 mM e entre 1 mM e 10 mM. Não houve diferença entre os demais tratamentos (Tabela 2 - Figura 6).

Tabela 2 - Teores de nitrogênio em porcentagem da matéria seca. Tratamentos expressos em concentrações milimolares de K. Tempo: semanas após o transplante^(a).

Tratamento (mMK)	Tempo (semanas após o transplante)									Média
0	5,45	4,44	4,44	5,95	4,80	4,97	5,68	4,75 ^(b)		5,0609
1	5,20	3,30	4,31	4,64	3,50	3,77	3,47	3,65		3,9799
2	5,15	3,05	4,23	4,40	3,66	3,55	3,65	3,17		3,8574
4	4,89	2,69	3,87	3,75	3,12	3,31	3,51	3,47		3,5762
6	4,79	2,84	3,62	3,93	3,48	3,00	3,68	3,25		3,5737
8	4,64	2,68	3,12	4,09	3,40	3,00	3,54	3,20		3,4599
10	4,81	2,57	3,63	4,12	3,15	3,02	3,40	3,40		3,5124

C.V. = 7,21%

DMS 5% = 0,43

(a) - idade das plantas = n^o de semanas + 9 dias

(b) - todas as parcelas correspondentes à 8a. semana, relativas ao tratamento 0 mM, foram estimadas estatisticamente devido à de generescência das plantas de tal tratamento.

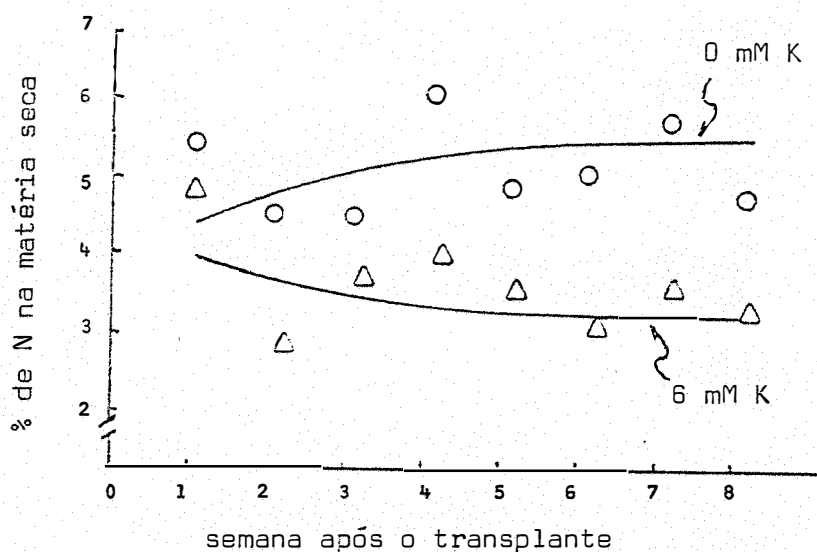


Figura 6 - Variação do teor de N nas folhas, em função da idade das plantas, em dois níveis de potássio.

4.2.2. Magnésio

Os níveis de Mg encontrados nas plantas relativas aos tratamentos 0 mM, 1 mM e 2 mM não diferiram entre si. Houve diferença significativa entre estes tratamentos e os demais. Não houve diferença entre os demais. (Tabela 3, Figura 7).

Tabela 3 - Teores de Mg em porcentagem da matéria seca. Tratamentos expressos em concentração milimolares de K. Tempo: semanas após o transplante.

Tratamento (mMK)	Tempo (semanas após o transplante)								Média
	1	2	3	4	5	6	7	8	
0	0,17	0,23	0,24	0,24	0,23	0,24	0,24	0,22	0,2263
1	0,16	0,15	0,21	0,18	0,18	0,21	0,27	0,28	0,2050
2	0,17	0,13	0,17	0,18	0,17	0,24	0,24	0,27	0,1963
4	0,16	0,11	0,15	0,18	0,16	0,18	0,17	0,19	0,1625
6	0,14	0,10	0,14	0,12	0,17	0,16	0,19	0,20	0,1525
8	0,12	0,10	0,14	0,15	0,16	0,18	0,16	0,19	0,1500
10	0,14	0,10	0,14	0,14	0,15	0,15	0,14	0,16	0,1400

C.V. = 12,3%

DMS 5% = 0,0330

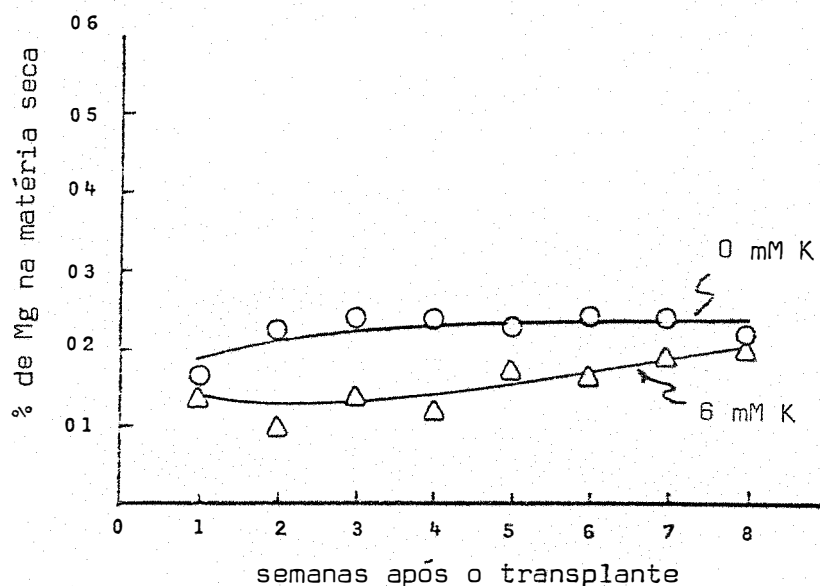


Figura 7 - Variação do teor de Mg nas folhas, em função da idade das plantas, em dois níveis de potássio.

4.2.3. Fósforo

Analogamente ao nitrogênio, os teores de fósforo encontrados nas plantas correspondentes ao tratamento 0 mM foram significativamente maiores do que nas plantas dos demais tratamentos. Houve ainda diferença entre os tratamentos 1 mM: 8 mM e 1 mM: 10 mM. Não houve diferença entre os demais tratamentos (Tabela 4, Figura 8).

Tabela 4 - Teores de fósforo em porcentagem da matéria seca. Tratamentos expressos em concentrações milimolares de K. Tempo: semanas após o transplante

Tratamento (mMK)	Tempo (semanas após o transplante)								Média
	1	2	3	4	5	6	7	8	
0	1,32	1,25	1,90	2,07	1,89	2,07	1,92	1,74	1,7701
1	1,29	0,51	1,87	0,67	0,75	0,61	0,76	1,05	0,9387
2	1,17	0,47	1,12	0,67	0,59	0,77	0,94	0,78	0,8137
4	1,07	0,38	1,15	0,44	0,50	0,50	0,76	0,74	0,6924
6	0,97	0,43	0,95	0,44	0,57	0,46	0,67	0,50	0,6237
8	0,93	0,38	0,68	0,49	0,51	0,41	0,57	0,51	0,5599
10	0,93	0,35	0,88	0,44	0,51	0,39	0,52	0,43	0,5562

C.V. = 24,5%

DMS 5% = 0,3200

(a) - estimada estatisticamente

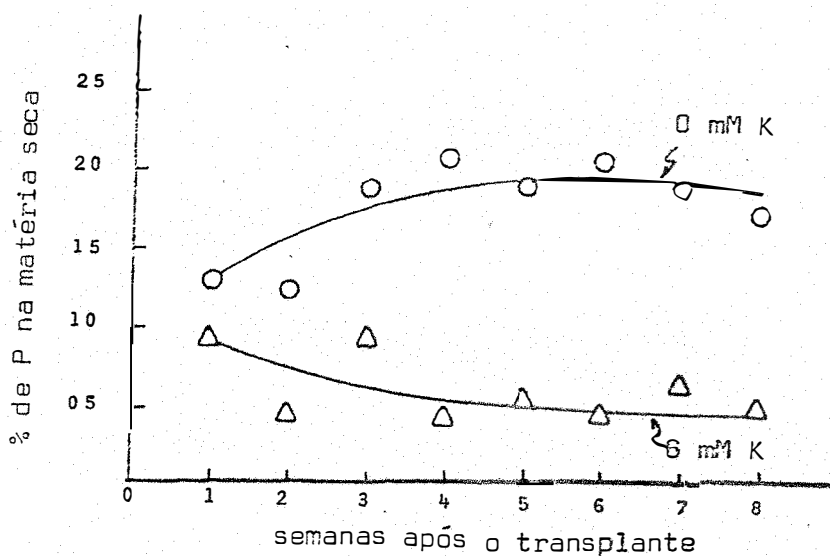


Figura 8 - Variação do teor de P nas folhas, em função do tempo, em dois níveis de K.

4.2.4. Cálcio

Os teores de cálcio encontrados em todos os tratamentos não diferiram significativamente. No entanto, notou-se uma certa tendência ao acúmulo de cálcio, com o correr do tempo, levando-se em conta as médias semanais de todos os tratamentos (Tabela 5, Figura 9).

Tabela 5 - Teores de cálcio em porcentagem de matéria seca. Tratamentos expressos em concentrações milimolares de K. Tempo: semanas após o transplante.

Tratamento (mMK)	Tempo (semanas após o transplante)								Média
	1	2	3	4	5	6	7	8	
0	6,36	7,28	6,92	7,08	6,44	6,56	6,32	6,71 ^(a)	6,9212
1	6,44	6,50	7,16	6,92	6,80	7,16	7,52	7,88	7,0474
2	6,36	6,08	6,76	6,92	5,52	7,60	7,72	9,12	7,0099
4	6,32	6,00	6,32	6,48	5,36	7,20	7,32	8,00	6,6249
6	6,16	5,88	6,36	6,32	5,44	7,40	7,72	8,00	6,6300
8	6,12	5,28	6,96	6,12	5,28	7,36	7,16	8,56	6,6349
10	5,68	4,96	6,12	7,16	5,12	7,04	7,12	7,68	6,3599

C.V. = 6,85%

DMS 5% = 0,7100

(a) - estimada estatisticamente

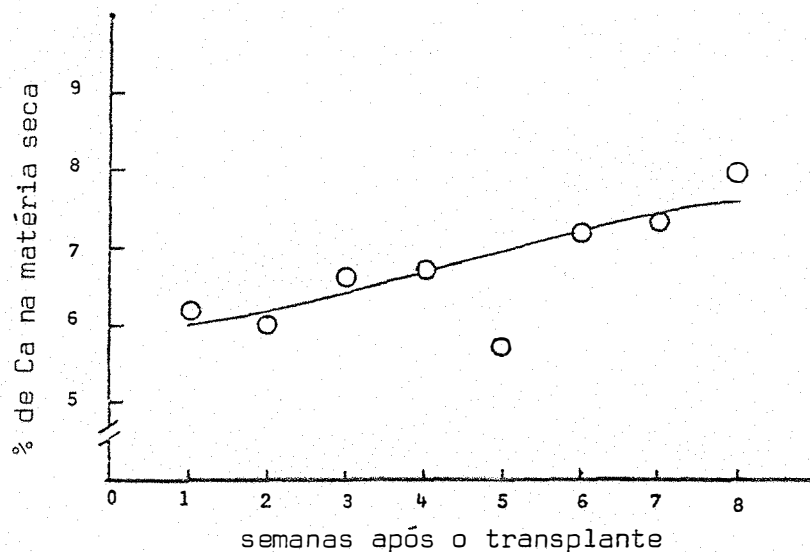


Figura 9 - Variação do teor de Ca nas folhas, em função do tempo. Valores representativos das médias dos tratamentos.

4.2.5. Potássio

Os teores de potássio encontrados só não foram significativamente diferentes entre os tratamentos:

0 mM e 1 mM

1 mM e 2 mM

6 mM e 8 mM

As demais comparações entre os vários tratamentos foram significativamente diferentes ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 6, Figura 10).

Tabela 6 - Teores de potássio em porcentagem da matéria seca. Tratamentos expressos em concentrações milimolares de K. Tempo: semanas após o transplante.

Tratamento (mMK)	Tempo (semanas após o transplante)								Média
	1	2	3	4	5	6	7	8	
0	1,12	0,45	0,52	0,45	0,49	0,47	0,47	0,94 ^(a)	0,6141
1	1,75	0,57	1,72	0,70	0,91	0,56	1,10	1,33	1,1174
2	2,15	0,89	2,84	1,67	1,95	1,66	2,37	1,44	1,8712
4	2,55	1,62	5,50	2,67	2,27	2,67	3,90	3,70	3,1099
6	5,10	2,44	6,68	3,52	4,50	3,90	4,54	5,21	4,4862
8	5,35	2,60	6,15	4,50	5,72	4,85	5,60	5,50	5,0337
10	5,69	2,69	6,87	5,69	6,25	5,87	6,06	6,06	5,6474

C.V. = 19,96%

DMS 5% = 0,9600

(a) - estimada estatisticamente

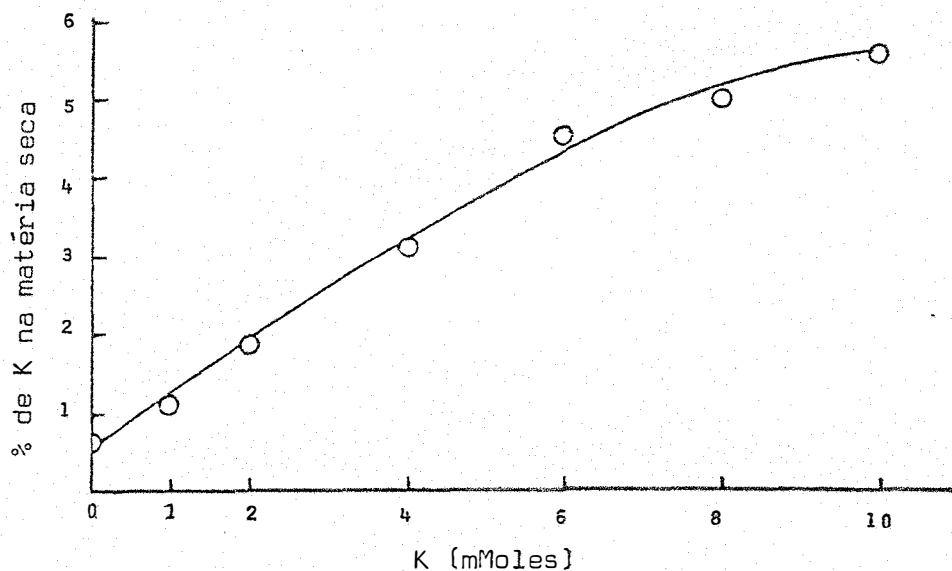


Figura 10 - Efeito da concentração de K na solução nutritiva sobre o teor de K nas folhas. Valores representativos das médias dos tratamentos.

4.2.6. Análise das sementes plantadas e colhidas

O resultado das análises das sementes plantadas e produzidas pelas plantas dos diversos tratamentos encontra-se na Tabela 7. Os valores encontrados referem-se aos elementos N, P, K e Ca totais expressos em porcentagem da matéria seca e proteínas totais expressas em mg/g de matéria seca.

Tabela 7 - Elementos minerais e proteína nas sementes plantadas e colhidas.

Ele- mentos	Plan- tadas	Colhidas						
		Tratamentos (mM K)						
		0 (a)	1	2	4	6	8	10
% da matéria seca								
N total	4,11	-	4,57	4,11	3,94	4,14	4,11	3,95
P total	0,49	-	0,79	0,69	0,72	0,75	0,73	0,74
K total	1,55	-	1,15	1,34	1,52	1,69	1,85	1,94
Ca total	1,00	-	1,24	1,28	1,36	1,20	1,20	1,20
mg/g de matéria seca								
Proteína	252,5	-	220,0	232,0	228,0	264,0	234,0	204,0

(a) - não houve produção de sementes

4.3. Análise da matéria verde

4.3.1. Proteína

A análise dos teores de proteína demonstrou que não houve diferença significativa entre os vários tratamentos (Tabela 8).

Tabela 8 - Teores de proteína nas folhas.

Tratamento (mMK)	Tempo (semanas após o transplante)								Média
	1	2	3	4	5	6	7	8	
mg/g de matéria seca									
0	62,70	50,00	55,88	83,52	92,35	98,82	110,59	78,41 ^(a)	79,03
1	70,42	60,71	80,00	75,00	42,14	50,00	75,00	70,71	65,49
2	70,42	65,85	75,71	83,28	40,00	50,00	52,14	42,85	60,03
4	39,57	54,50	87,14	86,43	62,14	52,86	75,43	80,00	67,25
6	35,78	35,78	55,71	65,71	75,71	49,28	92,14	65,43	59,44
8	37,00	43,21	76,42	73,57	45,71	56,43	77,86	43,57	56,72
10	28,28	53,00	65,43	61,43	37,86	71,43	81,14	58,57	57,14
C.V. = 22,93%							DMS 5% = 22,64		

(a) - estimada estatisticamente

4.3.2. Aminoácidos e amidas livres

4.3.2.1. Ácido aspártico

Os teores de ácido aspártico encontrados nas plantas relativas ao tratamento 0 mM foram bem mais elevados do que os dos demais tratamentos (Tabela 9, Figura 11).

Tabela 9 - Teores de ácido aspártico nas folhas.

Tratamento (mMK)	Tempo (semanas após o transplante)								Média
	1	2	3	4	5	6	7	8	
µg/g de matéria verde									
0	498	540	1668	1867	1800	2360	2400	(a)	1590,4285
1	328	315	169	327	337	261	603	430	346,2500
2	346	180	222	228	144	350	783	332	323,1250
4	296	180	337	154	188	295	540	395	298,1250
6	268	148	268	293	360	522	1080	486	428,1250
8	244	108	221	376	237	492	482	366	315,7500
10	213	80	327	154	223	630	460	416	312,8750

(a) - não se obteve material para análise

4.3.2.2. Asparagina

Os teores de asparagina encontrados nas plantas relativas ao tratamento 0 mM foram bem mais elevadas do que nos demais tratamentos (Tabela 10, Figura 11).

Tabela 10 - Teores de asparagina nas folhas.

Tratamento (mMK)	Tempo (semanas após o transplante)								Média
	1	2	3	4	5	6	7	8	
µg/g de matéria verde									
0	1140	1336	1573	2112	1979	4382	4200	(a)	2388,8571
1	735	314	633	315	180	171	668	486	437,7500
2	703	160	315	105	22	140	212	162	227,3750
4	296	52	169	37	51	33	298	65	125,1250
6	204	62	72	88	48	28	129	54	85,6250
8	204	57	142	42	65	32	97	44	85,3750
10	164	52	100	33	46	40	97	50	72,7500

(a) - não se obteve material para análise

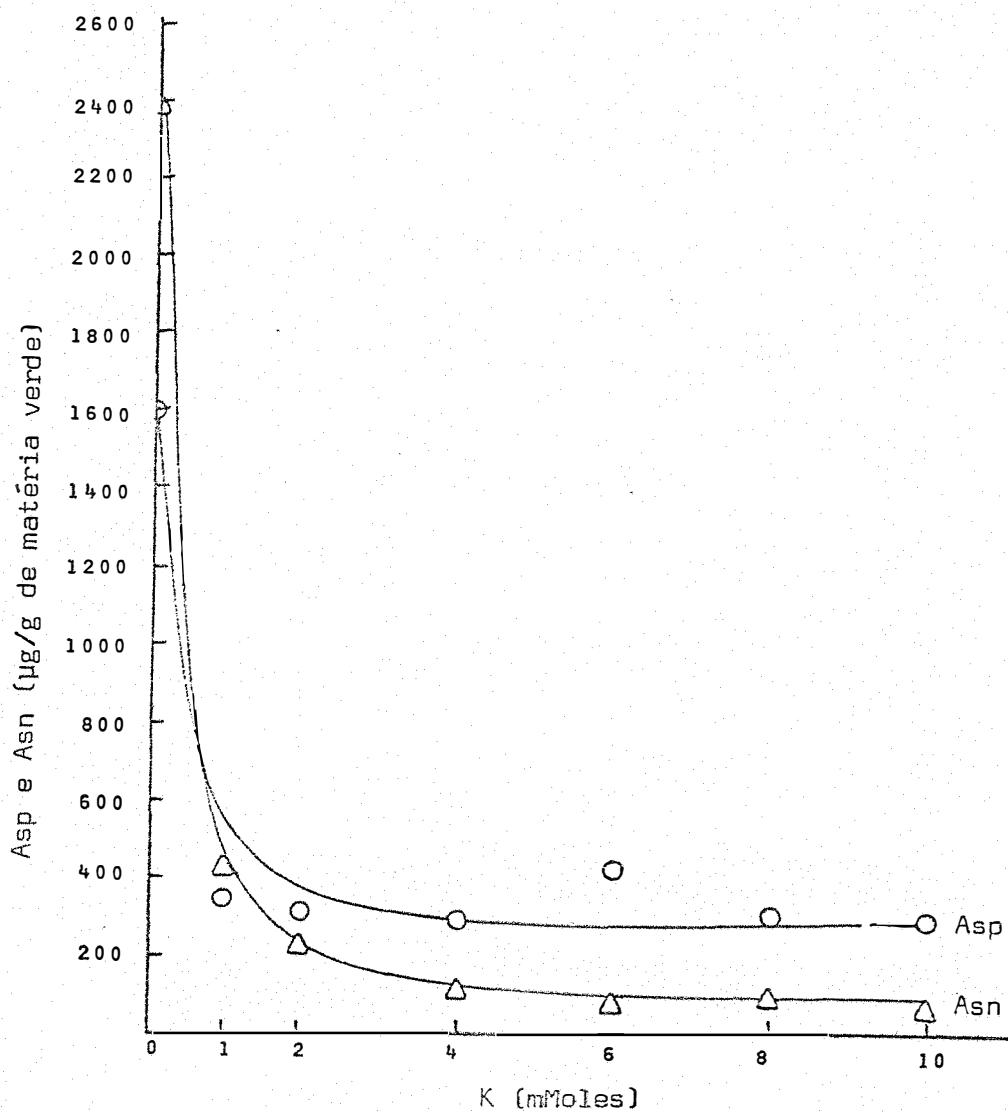


Figura 11 - Teores de ácido aspártico e de asparagina nas folhas, expressos em µg/g de matéria verde.

4.3.2.3. Ornitina

Quantidades detectáveis pelo método utilizado somente foram encontradas nas plantas relativas ao tratamento 0 mM. Nas plantas

dos demais tratamentos observou-se apenas traços de ornitina (Tabela 11).

Tabela 11 - Teores de ornitina nas folhas.

Tratamento (mMK)	Tempo (semanas após o transplante)								Média
	1	2	3	4	5	6	7	8	
µg/g de matéria verde									
0	15,00	15,00	26,70	45,80	39,30	45,80	42,60	(a)	32,90

(a) - não se obteve material para análise.

4.3.2.4. Arginina

Os teores de arginina mostraram-se mais elevados nas plantas relativas ao tratamento 0 mM e decrescentes com o aumento da concentração de K nas soluções nutritivas (Tabela 12).

Tabela 12 - Teores de arginina nas folhas.

Tratamento (mMK)	Tempo (semanas após o transplante)								Média
	1	2	3	4	5	6	7	8	
µg/g de matéria verde									
0	6,45	5,30	4,25	7,55	6,45	6,45	7,55	6,75 ^(a)	6,3463
1	5,30	5,30	6,45	6,45	7,55	6,45	7,55	4,25	6,1624
2	4,25	6,45	5,30	3,15	6,45	5,30	6,45	4,25	5,1999
4	4,25	3,15	4,25	5,30	4,25	3,15	5,30	3,15	4,0999
6	3,15	4,25	6,45	4,25	3,15	3,15	2,10	2,10	3,5749
8	4,25	3,15	6,45	3,15	3,15	2,10	2,10	2,10	3,3062
10	4,25	3,15	3,15	2,10	3,15	2,10	2,10	3,15	2,8937

C.V. = 26,10%

DMS 5% = 1,8200

(a) - estimada estatisticamente.

4.3.2.5. Citrulina

Os teores de citrulina encontrados nas plantas relativas ao tratamento 0 mM foram significativamente mais elevados do que nos demais tratamentos. Não houve diferença entre os demais tratamentos (Tabela 13).

Tabela 13 - Teores de citrulina nas folhas

Tratamento (mMK)	Tempo (semanas após o transplante)								Média
	1	2	3	4	5	6	7	8	
	µg/g de materia verde								
0	103,40	107,10	264,20	268,50	257,10	185,10	124,80	219,80	191,2482 ^(a)
1	57,60	76,00	43,20	54,60	46,00	48,80	63,60	57,60	55,9249
2	82,70	66,70	46,00	24,40	24,40	46,00	60,60	51,70	50,3124
4	66,70	54,60	54,60	72,90	86,00	51,70	89,40	82,70	69,8249
6	63,60	51,70	46,00	51,70	79,40	63,60	86,00	76,10	64,7624
8	118,40	63,60	72,90	76,10	48,80	69,80	54,60	51,70	69,4874
10	46,00	54,60	82,70	66,70	76,00	69,80	86,00	76,10	69,7375

C.V. = 40,31

DMS 5% = 51,0600

(a) estimada estatisticamente

4.3.3. Aminas

4.3.3.1. Agmatina

Não houve diferença significativa entre os teores de agmati na encontrados nas plantas de todos os tratamentos (Tabela 14).

Tabela 14 - Teores de Agmatina nas folhas

Tratamento (mMK)	Tempo (semanas após o transplante)								Média
	1	2	3	4	5	6	7	8	
	µg/g de materia verde								
0	3,00	1,44	2,16	1,28	2,00	3,24	3,52	2,14 ^(a)	2,3357
1	1,44	2,48	4,20	2,04	3,68	0,48	3,00	2,56	2,4349
2	1,64	2,48	3,68	4,80	3,20	2,46	2,68	1,60	2,8174
4	1,08	1,20	3,16	4,64	4,40	6,72	2,48	1,60	3,1599
6	0,96	1,20	3,00	0,32	3,20	1,14	2,00	1,44	1,6574
8	0,96	3,08	4,20	4,56	3,68	2,40	1,84	1,64	2,7349
10	0,96	1,84	3,88	1,20	1,60	2,40	2,72	1,60	2,0249

C.V. = 24,56

DMS 5% = 4,1100

(a) estimada estatisticamente

4.3.3.2. Putrescina

Não se conseguiu detectar putrescina, pelo método utilizado, nos tratamentos cuja concentração de K foi superior a 1 mM. No tratamento 0 mM observou-se que os teores de putrescina cresceram com o tempo (Tabela 15, Figura 12).

Tabela 15 - Teores de putrescina nas folhas.

Tratamento (mMK)	Tempo (semanas após o transplante)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
	µg/g de materia verde							
0	24,40	140,60	171,00	217,50	248,10	237,50	279,40	(a)
1	5,00	78,00	18,00	70,00	3,00	30,00	50,00	-

(a) - não se obteve material para análise

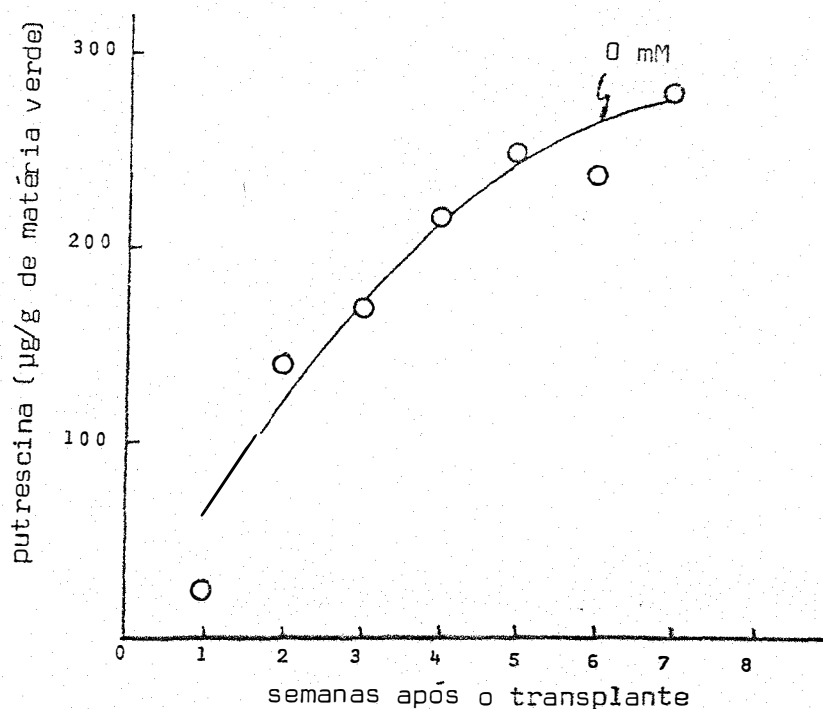


Figura 12 - Teores de putrescina nas folhas das plantas correspondentes ao tratamento 0 mM K.

4.3.3.3. N-carbamilputrescina (NCP)

Somente se conseguiu detectar NCP nas plantas relativas ao tratamento 0 mM, pelo método utilizado (Tabela 16).

Tabela 16 - Teores de NCP das folhas

Tratamento (mMK)	Tempo (semanas após o transplante)								Média
	1	2	3	4	5	6	7	8	
µg/g de matéria verde									
0	18,35	10,90	38,65	94,50	59,45	62,75	85,75	(a)	52,91

(a) - não se obteve material para análise

4.4. Medida da intensidade de síntese de proteína

4.4.1. Determinação do teor de proteínas

Determinou-se o teor de proteínas nas folhas cotiledonares confirmando-se o encontrado na Tabela 8, ou seja, parece não ter havido diferença entre os tratamentos, em relação à matéria seca. No entanto, observou-se uma queda acentuada nos teores de proteína, em relação ao tempo, nos diversos tratamentos (Tabela 17, Figura 13).

Tabela 17 - Teores de proteínas nas folhas.

Tratamento (mM)	Tempo (horas após a injeção de lisina- ¹⁴ C)				Média
	6	12	18	24	
	mg/g de matéria seca				
0	68,23	57,94	45,29	42,35	53,4525
3	69,64	56,43	52,14	35,71	53,4800
6	63,21	54,64	55,00	38,57	52,8550

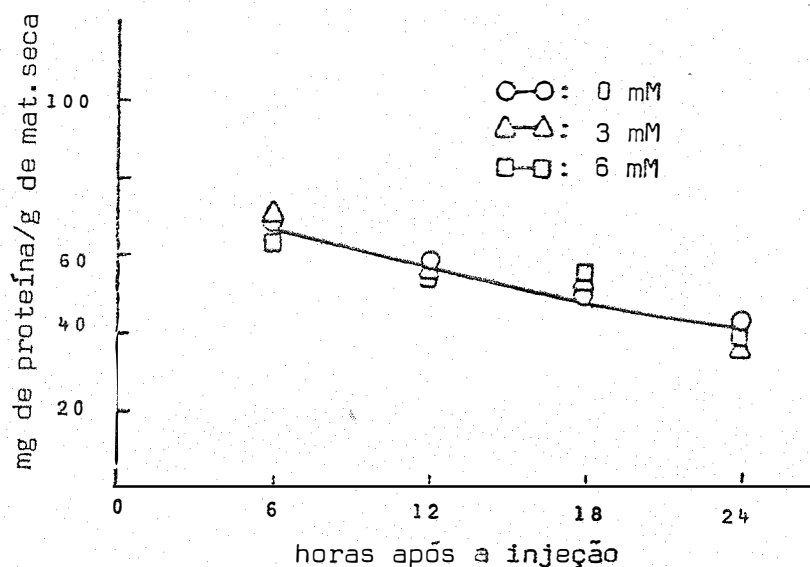
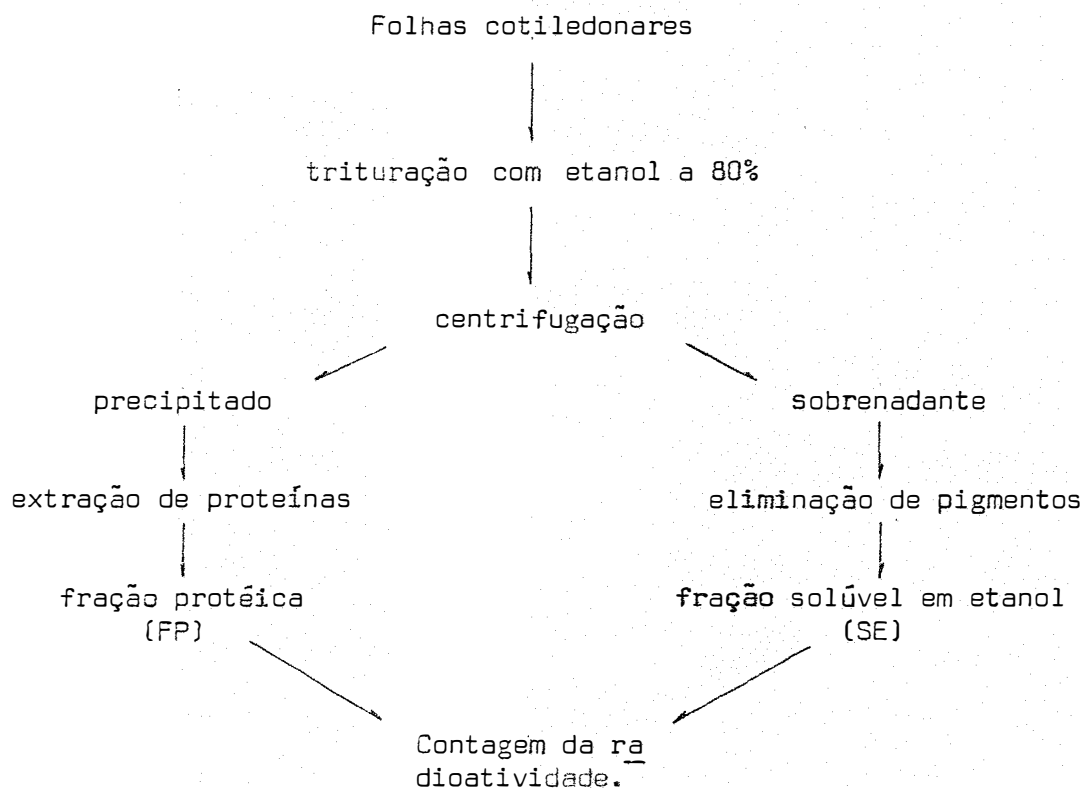


Figura 13 - Teores de proteínas das folhas cotiledonares

4.4.2. Radioatividade das frações solúvel em etanol (SE) e fração insolúvel em etanol (FP)

As frações solúvel em etanol (SE) e insolúvel em etanol (FP) foram obtidas seguindo-se o esquema de fracionamento abaixo indicado.

Esquema de fracionamento:



Mediu-se a radioatividade total das referidas frações e calculou-se a percentagem de incorporação de lisina metabolizável na fração FP (fração protéica) em relação à radioatividade translocada (Tabela 18). A radioatividade da lisina metabolizada foi obtida dividindo-se por 2 a radioatividade total: $(FP + SE) : 2$, pois a lisina- ^{14}C injetada estava sob a forma DL-lisina- ^{14}C . Admitiu-se, portanto, que apenas 50% da lisina- ^{14}C translocada poderia ser metabolizada, ou seja, a forma L-lisina- ^{14}C .

Tabela 18 - Radioatividades das frações solúvel em etanol (SE) e insolúvel em etanol (FP).

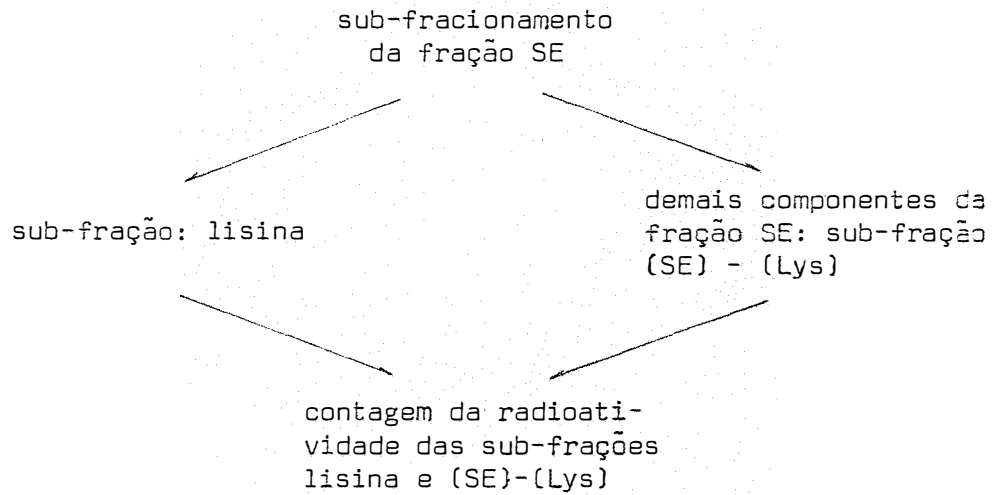
Tratamento (mMK)	Tempo após injeção (h)	Frações			Incorporação(a) (%)	Média por tratamento
		FP	SE	$\frac{\text{L-lisina}}{(\text{FP} + \text{SE}) \cdot 2}$		
dpm/g matéria seca						
0	6	37541	123470	80506	46,63	
0	12	38318	110710	74514	51,42	
0	18	44604	129920	87262	51,11	
0	24	25543	75420	50482	50,59	49,94
3	6	17780	71830	44805	39,68	
3	12	6776	38510	22643	29,92	
3	18	14308	56510	35409	40,40	
3	24	7455	29920	18687	39,89	37,47
6	6	10808	55150	32979	32,77	
6	12	8225	35640	21932	37,50	
6	18	5138	19670	12404	41,42	
6	24	6083	25200	15642	38,88	37,64

(a) - Porcentagem de incorporação da lisina metabolizada encontrada em FP, em relação à radioatividade translocada.

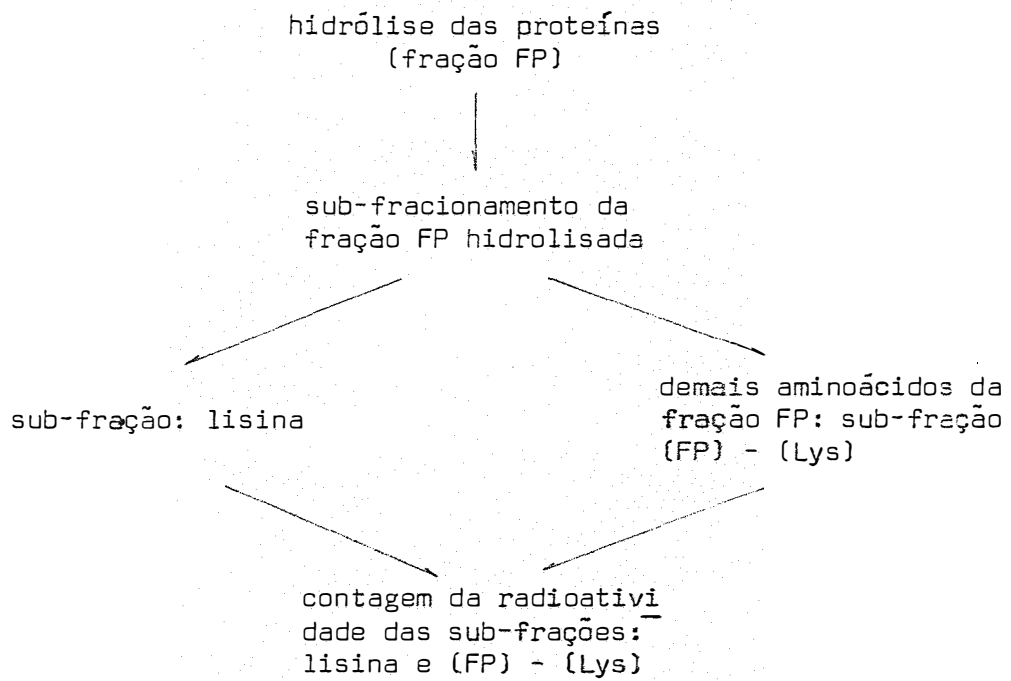
4.4.3. Detecção da radioatividade das sub-frações (SE)-(Lys) e (FP)-(Lys)

Os sub-fracionamentos das frações SE e FP, foram feitos de acordo com os esquemas seguintes:

Fração SE:



Fração FP:



O sub-fracionamento das frações insolúveis em etanol (FP), utilizando-se o Analisador Automático de aminoácidos acoplado ao coletor de frações e posterior contagem de radioatividade, demonstrou que, da lisina-¹⁴C translocada, apenas uma parte insignificante (0,8% do total translocado) foi metabolizada a ponto do seu radio-carbono ser incorporado em outro aminoácido protéico nas plantas do tratamento 0 mM, 24 horas após a injeção. No entanto, o sub-fracionamento das frações solúveis em etanol (SE) mostrou que, em tais amostras, foram metabolizadas quantidades bem maiores de lisina-¹⁴C translocadas, dentro do mesmo período de tempo (Tabela 19).

Tabela 19 - Radioatividades das sub-frações (FP) - (Lys) e (SE) - (Lys) e porcentagens de lisina-¹⁴C metabolizada, em relação ao total translocado (FP + SE), dentro de cada uma das sub-frações.

Tratamentos (mM K)	Radioatividades				Total (FP+SE)	Porcentagem de lisina- ¹⁴ C metabolizada (a)		TOTALS
	Frações					(FP)-(Lys)	(SE)-(Lys)	
	FP		SE					
	sub-frações		sub-frações					
(FP)-(Lys)	lisina	(SE)-(Lys)	lisina					
0	609	26196	2212	35327	70346	0,8	11,7	12,5
3	0	7335	6552	14438	28323	0	23,1	23,1
6	-	-	6031	11963	-	-	-	-

a) - em relação ao total translocado (FP+SE)

4.4.4. Dosagem de aminoácidos na fração protéica

4.4.4.1. Lisina

Os teores de lisina na fração protéica revelaram-se mais baixos no tratamento 0 mM do que nos tratamentos 3 mM e 6 mM, parecendo não ter havido diferença entre estes últimos (Tabela 20).

Tabela 20 - Teores de lisina protéica

Tratamento (mMK)	Tempo (horas após injeção)	Lisina $\mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína	Média
0	6	82,7	
0	12	71,8	
0	18	75,7	
0	24	93,1	80,8
3	6	83,3	
3	12	128,2	
3	18	120,0	
3	24	138,1	117,4
6	6	85,8	
6	12	133,9	
6	18	123,4	
6	24	159,1	125,5

4.4.4.2. Arginina

O teor de arginina protéica cresceu com o aumento do teor de potássio nas soluções nutritivas, como indicam os dados da Tabela 21.

Tabela 21 - Teores de arginina na fração protéica, 24 horas após a injeção de lisina-¹⁴C.

Tratamento (mMK)	Arginina µg/mg de proteína
0	44,3
3	50,5
6	62,1

5. DISCUSSÃO

5.1. Desenvolvimento dos sintomas visuais de deficiência

Os dados obtidos com relação ao crescimento das plantas (Figura 2) estão de acordo com o encontrado por *LUBIN e ENNIS (1964)* quanto à paralização da divisão e do crescimento celular de *E. coli*, em condições de deficiência de potássio e também com o obtido por *COBRA NETTO et al., (1971)*. Os demais sintomas visuais de deficiência de potássio observados a partir da primeira semana após o transplante para as soluções nutritivas, e durante todo o ciclo vegetativo das plantas do tratamento 0 mM, estão de acordo com o encontrado por *EVANS e SORGER (1966)* e *COBRA NETTO et al., (1971)*. Quanto às demais plantas cultivadas em soluções nutritivas deficientes em potássio, em relação à solução completa nº 2 de *HOAGLAND e ARNON (1950)*, somente apresentaram sintomas visuais de deficiência no final do ciclo vegetativo (1 mM) ou não apresentaram nenhum sintoma (2 mM e 4 mM). Levando-se em consideração que, nas soluções deficientes em potássio, o KNO_3 foi substituído por NH_4NO_3 , é possível que o íon NH_4^+ tenha complementado parte da deficiência de potássio nos tratamentos 1 mM, 2 mM e 4 mM. Tal suposição baseia-se nos trabalhos de *LUBIN e ENNIS (1964)*, *EVANS e SORGER (1966)*, *WILSON (1971)* e *GAUCH (1972)*. Existe ainda a possibilidade de que as concentrações de potássio nas soluções nutritivas empregadas no experimento (excessão do tratamento 0 mM) tenham suprido as necessidades da planta teste e que as plantas dos tratamentos 1 mM, 2 mM e 4 mM não tenham feito baixar as concentrações de potássio das soluções nutritivas a níveis inferiores a 0,095 mM dentro dos 15 dias que separaram a renovação das soluções no presente experimento. Tal concentração de potássio (0,095 mM) é o nível médio ótimo para que as plantas mais exigentes atinjam o máximo desempenho, segundo o estabelecido por *ASHER e OZANNE (1967)*, citado por *BARBER (1968)*, que trabalharam com 14 espécies de plantas cultivadas em soluções nutritivas renovadas em curto espaço de tempo objetivando a manutenção

de uma concentração constante de potássio.

5.2. Conteúdo de água e crescimento vegetativo

A porcentagem de matéria seca decresceu com o aumento dos teores de potássio nas soluções nutritivas (Figura 3), estando de acordo com o encontrado por *EATON (1952)*. Sabe-se que plantas deficientes em potássio transpiram menos (*JACKSON e VOLK, 1968*). Portanto, o menor conteúdo de água em plantas deficientes em potássio se deve a menores taxas de absorção (*CHEVALIER, 1971*), sendo este fator responsável, em parte, pelo menor tamanho das plantas deficientes, desde que o crescimento celular em plantas é quase que inteiramente devido à absorção de água, enquanto que microrganismos e animais tem o seu crescimento celular dependente primariamente de síntese de proteínas (*LOCKHART, 1965*).

5.3. Absorção de nutrientes

A inexistência de diferenças significativas entre os teores de cálcio das plantas dos vários tratamentos (Tabela 5), sugere que o potássio não influenciou na absorção de cálcio. Tais dados são semelhantes aos encontrados por *BOWER e PIERRE (1944)*, citados por *MUNSON (1968)*, trabalhando com soja. No entanto, estes dados discordam daqueles encontrados por *NELSON et al., (1945)*, citado por *PESEK (1968)*, e *MAGNITSKI (1961)*, segundo os quais, plantas (entre elas o feijão) submetidas à deficiência de potássio absorvem mais ativamente o cálcio. Parece que, no caso do presente trabalho, o íon NH_4^+ substituiu satisfatoriamente o potássio, impedindo uma absorção mais intensa de cálcio.

O decréscimo dos teores de magnésio com o aumento das concentrações de potássio nas soluções nutritivas estão de acordo com os resultados encontrados por *BOWER e PIERRE (1944)*, citado por *MUNSON (1968)* e *MAGNITSKI (1961)*.

A queda dos teores de nitrogênio total com os acréscimos de potássio, concordam com os resultados obtidos por *MAC'GREGOR et al.* (1961), *MAC'LEOD e SUZUKI* (1967), *COBRA NETTO* (1971), *NGUYEN* (1972) que encontraram aumentos consideráveis nos teores de nitrogênio em plantas deficientes em potássio. Entretanto, em relação ao presente trabalho, não se pode afirmar se tais decréscimos do nitrogênio total decorrem dos acréscimos de potássio ou da maior facilidade de absorção e incorporação do NH_4^+ nos "pools" metabólicos. Provavelmente os dois fatores contribuíram para que maiores teores de nitrogênio fossem encontrados nas plantas deficientes. Corroboram com tal hipótese os resultados obtidos por *BARKER et al.*, (1967) trabalhando com plantas de feijão. Estes autores observaram que plantas deficientes em potássio absorvem mais NH_4^+ do que plantas normais.

Os maiores teores de fósforo encontrados nas plantas deficientes em potássio estão de acordo com os resultados obtidos por *NGUYEN et al.* (1972) em cevada. À adubação potássica, as plantas respondem com menor porcentagem de fósforo na matéria seca. Dos resultados obtidos por aqueles autores, pode-se ainda deduzir que, em condições de grande deficiência de nitrogênio e potássio, as plantas respondem à adubação nitrogenada apresentando um maior teor de fósforo em termos de porcentagem da matéria seca. Vale ressaltar que a fonte de nitrogênio utilizada pelos autores foi o NH_4NO_3 . Notou-se ainda um decréscimo nos teores de fósforo, com a idade, em todos os tratamentos (Tabela 4 do ítem 1.6.1.2.), estando este dado de acordo com o encontrado por *HAAG et al.* (1967).

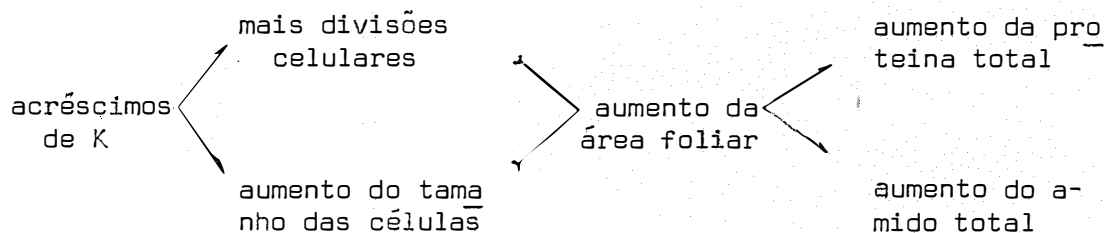
Os teores de potássio encontrados nas folhas e nas sementes colhidas (Tabelas 6 e 7) cresceram com o aumento da concentração de potássio nas soluções nutritivas, estando de acordo com o encontrado em alfafa por *NGUYEN et al.* (1972).

5.4. Teores de proteínas

O não aparecimento de diferenças significativas entre os

teores de proteínas nas plantas dos vários tratamentos parece ter sido como responsável o íon NH_4^+ que, como já dissemos, substituiu o potássio nas soluções nutritivas deficientes. Segundo *WILSON (1971)*, o NH_4^+ substituiu o potássio, em alguns casos, com a mesma eficiência. Além disso, *RICHARDS (1956)* afirma não haver provas de que o potássio esteja diretamente relacionado com a síntese de proteínas. *LUBIN e ENNIS (1964)*, trabalhando com estirpes mutantes de *E. coli* que não acumulam potássio, verificaram que a síntese de proteínas era interrompida ao extrair-se o potássio do meio. No entanto, a adição de NH_4^+ a extrato de células provocou um aumento de incorporação de fenilalanina, da ordem de 2 a 4 vezes maior do que aquela promovida pelo potássio. Estes autores verificaram ainda que a extração do potássio do meio de cultura provocava a parada da divisão e do crescimento celular, mas não interrompia a síntese de RNA. Também *HELLER (1956)*, encontrou indícios de que a deficiência de potássio inibe a divisão celular em cultura de tecido de cenoura, por degenerescência das regiões meristemáticas. *MAC'GREGOR et al. (1961)* verificaram que o fornecimento de maiores quantidades de potássio a cultura de alfafa não se traduziu por maiores teores de proteínas, mas aumentou a colheita. *WEBSTER (1956)* observou que, em presença de Mg^{++} , o potássio é mais eficiente para a incorporação de glutamato- ^{14}C em cadeias polipeptídicas. Ainda, *CLARK (1936)* estudando os efeitos de NH_4^+ e NO_3^- em plantas de tomate, verificou que as plantas tratadas com nitrogênio amoniacal se apresentaram com maior teor de proteínas do que as plantas que receberam nitrogênio sob forma nítrica. *DEOSTHALE et al. (1972)* observaram que a adubação nitrogenada ocasionou em *Pennisetum typhoides* um aumento nos teores de proteínas. É interessante ressaltar que a fonte de nitrogênio utilizada por estes últimos foi o $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Ao que parece, então, o NH_4^+ é mais eficiente para a síntese protéica do que o potássio e este tem importância acentuadamente maior na divisão e crescimento celular do que propriamente na síntese de proteína, para a qual o único catalizador insubstituível é o Mg^{++} (*COHEN, 1971*).

Assim sendo, o seguinte esquema representaria a maneira pela qual o potássio influencia no acúmulo de proteínas ou amido, em plantas:



Aumentos nos teores de potássio das sementes apresentaram-se em correlação direta com os teores de proteínas, até o tratamento completo (6 mM). Acima desta concentração de potássio, notou-se uma queda nos teores de proteínas (Tabela 7 do item 4.2.6.). Não foram coletados dados sobre a produção de sementes.

5.5. Acúmulo de compostos nitrogenados livres: Aminoácidos, amidas e amins

As grandes quantidades de ácido aspártico e asparagina encontrados no tratamento 0 mM (respectivamente, 24 e 53 vezes, maiores em relação ao tratamento completo) e ainda as maiores quantidades de ornitina, citrulina e arginina encontrados no tratamento 0 mM, estão de acordo com o encontrado por WALL (1940), EATON (1952), RICHARDS e BERNER (1954), BARKER e BRADFIELD (1963), EVANS e SORGER (1966), MAC'LEOD e SUZUKI (1967), HOFFMAN e SAMISH (1971), NGUYEN *et al.* (1972), BASSO (1973). No entanto, CLARK (1936) estudou o efeito do nitrogênio nítrico e do nitrogênio amoniacal, como fontes de nitrogênio para plantas de tomate, sem alterar o teor de potássio, observou que os compostos nitrogenados livres se apresentaram em maiores quantidades nas plantas tratadas com nitrogênio amonia-

cal. Portanto, não se pode concluir se é a deficiência de potássio ou o excesso de amônio (que substituiu o potássio nas soluções nutritivas deficientes) a causa do maior teor de aminoácidos e de asparagina encontrados na fração solúvel em álcool.

Dos resultados obtidos, observou-se o acúmulo, principalmente, dos aminoácidos ornitina e citrulina e das aminas putrescina e NCP (Figura 14) nas plantas correspondentes ao tratamento 0 mM.

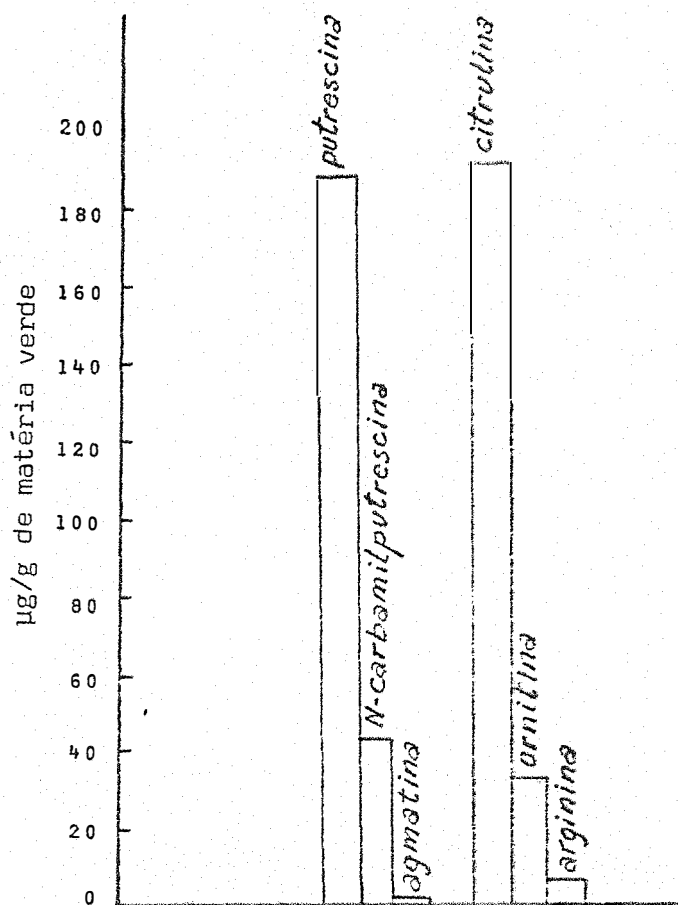


Figura 14 - Aminoácidos do ciclo ornitina-uréia e aminas por eles formadas. Teores expressos em µg/g de matéria verde e relativos ao tratamento 0 mM.

Levando-se ainda em consideração o esquema da Figura 15, baseado em CROCOMO (1974), parece que, em plantas de feijão submetidas a extrema deficiência de potássio, o acúmulo de citrulina se deve a uma queda da atividade da enzima desimidase de arginina (SHAFFER e THOMPSON, 1968). A sintetase argininossuccínica não tem sido encontrada em plantas (FOWDEN, 1965). Concomitantemente, o aumento das atividades das descarboxilases de citrulina (CROCOMO et al. 1970) e ornitina (RICHARDS e COLEMAN, 1952) seria o fator responsável pelo aumento dos teores de NCP e pelo grande acúmulo de putrescina. O pequeno acúmulo de arginina em plantas deficientes (0 mM) é decorrente da menor incorporação de arginina nas plantas (Tabela 21) e, provavelmente, à pequena atividade da descarboxilase de arginina e/ou da arginase. BASSO e CROCOMO (1974), trabalhando com plantas adultas de gergelim, encontraram muito baixa atividade de arginase nas plantas deficientes em potássio. A descarboxilação de arginina originando a agmatina e a degradação desta em putrescina (MIYAKI e MOMIYAMA, 1956, citado por SMITH e GARRAWAY, 1964) é uma via que, até o momento, só foi observada em microrganismos.

As vias de formação das aminas putrescina, N-carbamilputrescina e agmatina, em plantas de feijão deficientes em potássio, poderiam ser elucidadas incubando-se os aminoácidos que lhes dão origem (ornitina, citrulina e arginina) marcados com carbono radioativo, tal como foi feito por BASSO e CROCOMO (1974) em gergelim. Também glutamato-¹⁴C e aspartato-¹⁴C poderiam ajudar a esclarecer os caminhos metabólicos dos referidos aminoácidos e das aminas a que eles dão origem.

Segundo HOFFMAN e SAMISH (1971) os níveis de putrescina poderiam servir como indicadores da necessidade de adubação potássica a árvores frutíferas. No entanto, neste trabalho não se encontrou correlação entre os níveis de putrescina e os níveis de potássio das soluções nutritivas utilizadas, não se podendo dizer, portanto, se os níveis de potássio, a partir do tratamento 2 mM, foram suficientes ou se o NH_4^+ complementou o referido cátion satisfatoriamente. Ob

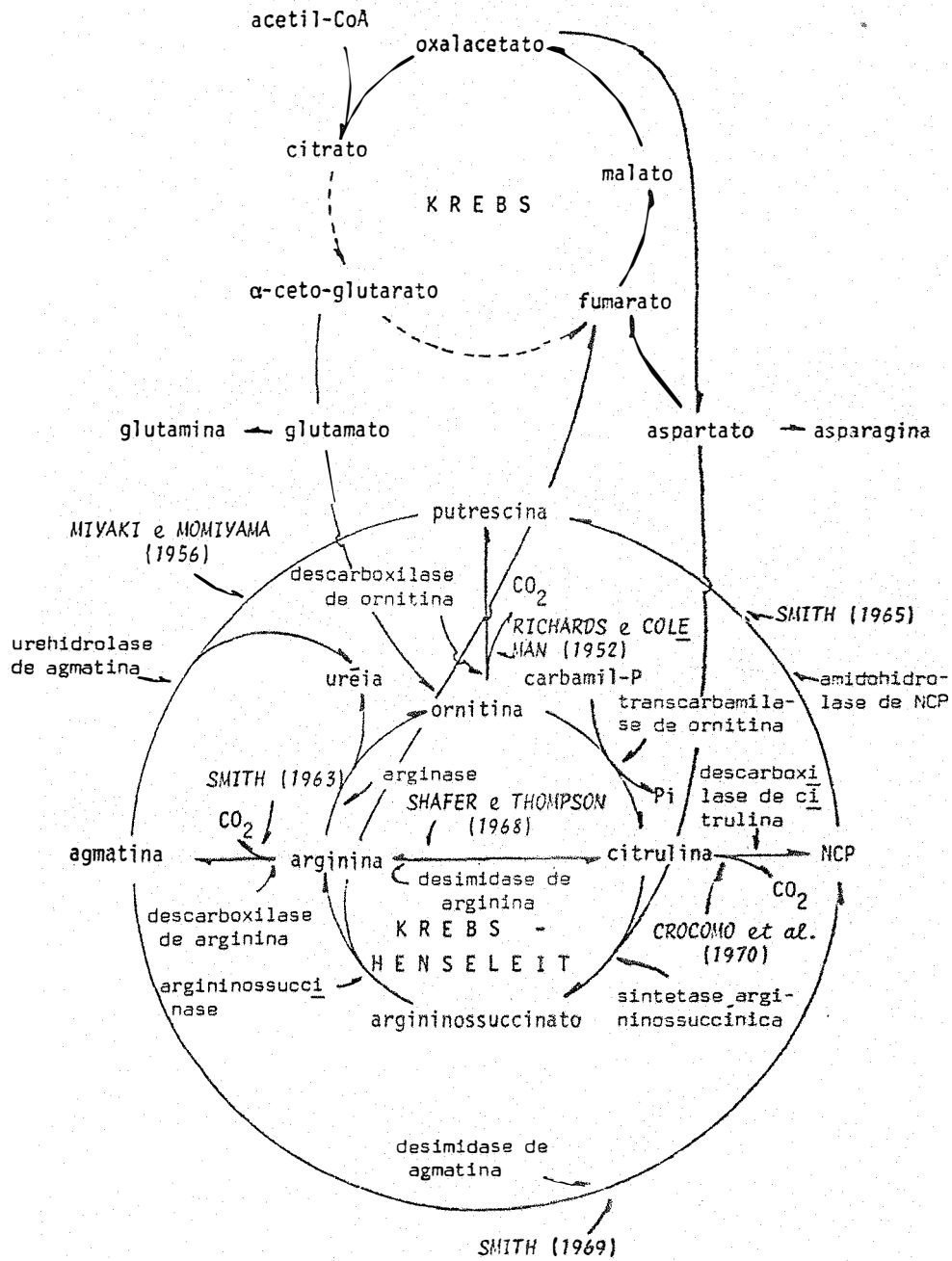


Figura 15 Interrelação entre o ciclo de Krebs e o ciclo ornitina-uréia e vias de formação das aminas putrescina, N-carbamilputrescina e agmatina em plantas deficientes de potássio.

servou-se, contudo, uma nítida correlação inversa entre as porcentagens de potássio na matéria seca e os teores de arginina expressos em $\mu\text{g/g}$ de matéria verde (Figura 16). A confirmarem-se tais resultados, a arginina poderá se revelar como um bom indicador do estado de nutrição potássica de plantas superiores.

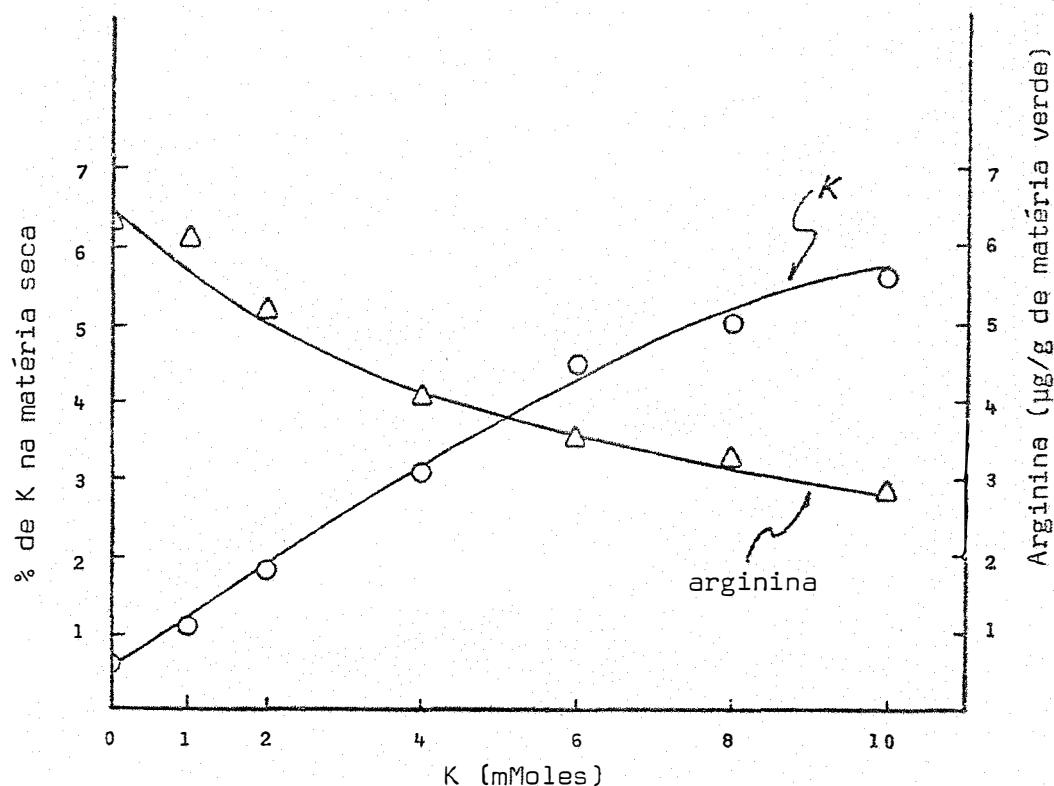


Figura 16 - Variação dos teores de arginina e potássio nas folhas em função da concentração de K na solução nutritiva. Valores representativos das médias dos tratamentos.

Por outro lado, não se pode afirmar se foi somente a deficiência de potássio, ou a presença do NH_4^+ na solução nutritiva, o fator responsável por tal comportamento por parte da arginina, muito embora os tratamentos 6, 8 e 10 mM contivessem o mesmo teor de NH_4^+ e o teor de arginina continuasse diminuindo. É evidente, também, a necessidade de serem feitos ensaios com Na, Cs, Rb e Li, que even-

tualmente substituem o potássio em várias de suas funções (EVANS e SORGER, 1966), bem como conduzir experimentos para o estudo da biosíntese de arginina, em condições de deficiência dos demais elementos minerais essenciais, afim de que se possa ou não utilizar o teor de arginina como um real indicador do estado nutricional de plantas superiores, em relação ao potássio, tal como é a xilose nos casos de deficiência de Mn^{++} em *Citrus*, segundo trabalho desenvolvido por BAR-AKIVA et al. (1967), testando plantas deficientes em micronutrientes.

5.6. Síntese de proteína e metabolismo da lisina- ^{14}C

5.6.1. Teores de proteínas

Os resultados contidos na Tabela 17 confirmaram os resultados obtidos na primeira parte do experimento (Tabela 8), ou seja, não houve variação nos teores de proteína entre os tratamentos. Como as soluções nutritivas utilizadas foram balanceadas seguindo-se a mesma orientação da parte inicial, o NH_4^+ parece ter substituído o potássio satisfatoriamente nos casos de deficiência deste último.

Notou-se, entretanto, uma queda drástica nos teores de proteínas (cerca de 42%) em todos os tratamentos durante o período de incubação (24 horas) com lisina- ^{14}C . A transferência das plantas da casa de vegetação para a câmara de crescimento, bem como a manipulação para a injeção da lisina- ^{14}C no caule, parecem ter sido as causas de tal comportamento metabólico por parte das mesmas.

5.6.2. Intensidade de síntese de proteínas e metabolismo da lisina- ^{14}C

A análise dos dados da Tabela 18 revelou uma incorporação de radioatividade em média de 12,0% mais elevada nas plantas do tratamento 0 mM em relação aos demais tratamentos.

Três hipóteses podem ser consideradas:

- a)- Em deficiência de potássio, alguma proteína, com elevado teor de lisina, poderia estar sendo mais intensamente sintetizada.

SMITH (1965), trabalhando com cevada, encontrou dados que não somente demonstravam uma maior atividade da enzima N-carbamil-putrescina amidohidrolase como também sugeriam a existência de maiores quantidades absolutas da referida enzima, nas plantas deficientes em potássio. Os dados da Tabela 2J, entretanto, mostram um menor teor de lisina nas proteínas das plantas do tratamento 0 mM em relação as plantas dos demais tratamentos, invalidando portanto tal hipótese.

- b)- A lisina-¹⁴C translocada teria maior probabilidade de ser incorporada nas proteínas sintetizadas pelas plantas deficientes, onde se encontra em maior concentração.

Muito embora plantas deficientes em potássio cheguem a apresentar um conteúdo de aminoácidos livres de 5 a 6 vezes maior do que plantas normais, esta diferença só se verifica após várias semanas de deficiência, não ocorrendo aumentos superiores a 30% após a primeira semana (*BASSO e CROCOMO, 1974*). Levando-se em conta que a quantidade de lisina-¹⁴C injetada foi a mesma para todas as plantas e que as plantas dos tratamentos 3 mM e 6 mM produziram, em média, 78 a 103%, respectivamente mais matéria verde do que as plantas do tratamento 0 mM, a concentração de lisina-¹⁴C seria maior nas plantas do tratamento 0 mM e, conseqüentemente, nestas plantas seria maior também a probabilidade de incorporação de lisina-¹⁴C em proteínas. Se assim for, uma maior incorporação de lisina-¹⁴C não seria um indicador de maior intensidade de síntese de proteínas.

c)- Estaria havendo maior intensidade de síntese compensada por uma degradação também rápida da proteína sintetizada.

As hipóteses b e c são as que parecem ser mais viáveis. No entanto, os dados obtidos não permitem indicar a mais provável dentre elas.

Como se pode notar, os dados disponíveis não permitem conclusões a respeito da intensidade de síntese de proteínas nas plantas dos diversos tratamentos.

Dos dados da Tabela 19, observa-se que duas vezes mais lisina-¹⁴C foi metabolizada nas plantas do tratamento 3 mM (Fração SE) do que nas plantas do tratamento 0 mM. Além disso, muito embora menores quantidades de lisina-¹⁴C tenham sido metabolizadas nas plantas do tratamento 0 mM, ocorreu nestas últimas a formação de aminoácidos protéicos radioativos (ainda que em quantidades pequenas, 0,8% do total translocado), o que não foi observado quando lisina-¹⁴C foi injetada nas plantas do tratamento 3 mM. Tais dados comportam as seguintes hipóteses:

a)- A amplitude dos "pools" das vias do catabolismo da lisina seriam maiores nas plantas do tratamento 3 mM do que nas plantas do tratamento 0 mM, retardando a incorporação do radiocarbono da lisina-¹⁴C em aminoácidos protéicos.

b)- As vias catabólicas da lisina nas plantas desses dois tratamentos seriam diferentes, sendo a lisina mais rapidamente transformada em aminoácidos protéicos, nas plantas do tratamento 0 mM.

No entanto, no presente trabalho, não foram coletados dados suficientes para se poder concluir qual das hipóteses citadas é a

mais provável.

Não se procurou identificar os aminoácidos protéicos em cuja cadeia foi incorporado o radiocarbono originário da lisina-¹⁴C. É provável que tal aminoácido seja o ácido glutâmico de conformidade com o encontrado por *GOBBELLAAR e STEWARD (1953)*, que incubaram plantas de feijão com lisina-¹⁴C durante 55 horas, e ainda *NIGAN (1963)* e *SODEK e WILSON (1970)*. Estes últimos encontraram também prolina radioativa, além do ácido glutâmico, no endosperma de milho normal e opaco-2, 24 dias após a injeção de lisina-¹⁴C.

A radioatividade encontrada em outros compostos da fração solúvel em álcool também não foi objeto de identificação no presente trabalho. Provavelmente seria encontrado ácido pipercolico radioativo, segundo dados obtidos por *GOBBELLAAR e STEWARD (1953)*, *LOWY (1953)* e *NIGAN (1963)*.

6. CONCLUSÕES

A análise dos dados obtidos permite as observações e conclusões que se seguem:

- a. A porcentagem de potássio na matéria seca das folhas, o tamanho das plantas e o seu conteúdo de água se apresentaram em correlação direta com potássio disponível às mesmas plantas.
- b. O potássio não influenciou no conteúdo de cálcio da matéria seca das folhas.
- c. A porcentagem de cálcio da matéria seca das folhas aumentou em função do tempo, em todos os tratamentos.
- d. As porcentagens de fósforo e magnésio, na matéria seca das folhas, mostraram-se em correlação inversa com a concentração de potássio.
- e. O NH_4^+ supriu as deficiências de potássio e de NO_3^- na síntese de proteínas.
- f. Acréscimos de potássio, em presença de concentrações constantes de NH_4^+ e NO_3^- não contribuíram para a modificação do teor de pro-

teínas das folhas.

- g. Os teores de ácido aspártico, asparagina, ornitina, citrulina, N-carbamilputrescina e putrescina somente se apresentaram em altas concentrações (ou em concentrações detectáveis pelos métodos utilizados) nas plantas do tratamento em que o potássio estava ausente (0 mM), sugerindo que a concentração de 1 mMol de potássio por litro de solução nutritiva já é praticamente suficiente para se evitar o acúmulo dessas substâncias. No caso de putrescina, observou-se uma correlação direta entre as concentrações da mesma e a idade das plantas do tratamento 0 mM.
- h. O teor de arginina mostrou-se como a variável mais dependente da concentração de potássio (disponível às plantas ou nas folhas) dentre todas aquelas estudadas. Apresentou-se em correlação inversa com o conteúdo de potássio.
- i. Houve uma incorporação acentuadamente maior de lisina-¹⁴C (cerca de 12%) em plantas deficientes em potássio (0 mM) com relação às plantas dos demais tratamentos (3 mM e 6 mM) durante as primeiras 24 horas de incubação. Contudo, tal fato não correspondeu a um aumento do teor de proteínas.
- j. A concentração de potássio suficiente para o desenvolvimento normal de plantas de feijão cultivadas em solução nutritiva, renovada a cada 15 dias, parece situar-se entre 1 mM e 2 mM.

7. RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo contribuir para o estudo do papel do potássio na fisiologia e bioquímica de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L., cv. Goiano Precoce). Alguns dos aspectos observados foram: sintomas visuais da deficiência do elemento, produção de matéria seca, algumas interações iônicas na absorção de nutrientes, variações nos teores de certos aminoácidos e das aminas derivadas de alguns deles, teor de proteínas, metabolismo de lisina-¹⁴C e possíveis correlações entre os teores de algumas substâncias e as doses de potássio fornecido às plantas. Foram analisadas apenas as folhas.

Para atingir esse objetivo, plantas de feijão foram cultivadas em soluções nutritivas contendo 0, 1, 2, 4, 6, 8 e 10 milimoles de potássio por litro, correspondendo a solução 6 mM à completa, nº 2, de HOAGLAND e ARNON (1950).

Nas soluções deficientes em potássio, o KNO_3 foi substituído por NH_4NO_3 na proporção de 2:1. As soluções contendo excesso de

potássio foram preparadas adicionando-se KCl à solução completa.

Foram feitas colheitas semanais, num total de oito, abrangendo todo o ciclo vegetativo das plantas.

Os aminoácidos e aminas foram extraídos com etanol a 80%, fracionados em resina AG 50W-X8, H^+ , 200-400 mesh, cromatografados em papel de filtro e dosados colorimetricamente. As proteínas foram extraídas com NaOH 0,1 N e dosadas pelo método do Micro-biureto. Os elementos minerais N, P, K, Ca e Mg foram dosados no extrato de folhas secas.

Para o estudo do metabolismo de lisina- ^{14}C o extrato verde foi fracionado em analisador automático de aminoácidos e a radioatividade das frações medida em contador de cintilações líquidas.

Os dados obtidos mostraram que a síntese de proteínas não foi comprometida quando se substituiu o K^+ por NH_4^+ , nos casos de deficiência do primeiro.

Em condições de extrema deficiência de potássio, o teor de nitrogênio e de alguns compostos nitrogenados solúveis, tais como o ácido aspártico, asparagina, ornitina, citrulina, N-carbamilputrescina e putrescina, aumentaram drasticamente.

Algumas variáveis, tais como o tamanho das plantas e o teor de água, mostraram-se em correlação direta com a concentração do K (nas soluções nutritivas ou nas folhas).

Outras variáveis, tais como os teores de P, Mg e arginina, mostraram-se em correlação inversa com a concentração de K.

A concentração de K suficiente para o desenvolvimento normal do feijão parece estar situada entre 1 mM e 2 mM.

8. SUMMARY

The objective of the present work was to contribute to the understanding of the role of potassium in the physiology and biochemistry of the bean plant (*Phaseolus vulgaris* L., cv. Goiano Precoce).

Some observed aspects were: visual symptoms of deficiency of the element, yield of dry matter, some ionic interaction in nutrient absorption, variation in the level of certain aminoacids and the amines derived from some of them, protein levels, metabolism of lysine-¹⁴C and possible correlations between the levels of some substances and the doses of potassium fed to the plants. Only leaves were analyzed.

With this objective, bean plants were grown in nutrient solutions which had 0, 1, 2, 4, 6, 8 and 10 milimoles of potassium per liter, the 6 mM solution corresponding to the complete solution, n° 2, of HOAGLAND and ARNON (1950).

In the potassium-deficient solutions, KNO₃ was substituted

by NH_4NO_3 in the proportion of 2;1. In the excess-potassium solutions, KCl was added to the complete solution.

Material was collected at weekly intervals up to the eighth week, covering the vegetative cycle of the plant.

The aminoacids and amines were extracted with 80% ethanol, fractionated on the cation exchange resin AG 50W-X8, H^+ , 200-400 mesh, separated by paper chromatography and determined quantitatively by a colorimetric method. Proteins were extracted by 0.1 N NaOH and estimated by the micro-biuret method. The mineral elements N, P, K, Ca and Mg were analyzed in the dry-leaf extract.

To study the metabolism of lysine- ^{14}C , the extract of fresh material was fractionated by the automatic aminoacid analyzer and radioactivity counted in a liquid scintillation system.

The data showed that protein synthesis was not different when potassium was replaced by NH_4^+ in potassium-deficient solutions. In conditions of extreme potassium-deficiency, total nitrogen and some soluble nitrogen compounds, like aspartic acid, asparagine, ornitine, citrulline, N-carbamilputrescine and putrescine, were at higher levels.

Some variables, like height and water content, showed a direct correlation with the K concentration (in nutrient solutions or in the leaves).

Other variables, like P, Mg and arginine content, showed an inverse correlation with the K concentration.

The concentration of K sufficient for the normal development of beans, seems to be between 1 mM and 2 mM.

9. LITERATURA CITADA

ATFIELD, G.N. e C.J.O.R. MORRIS (1961) - Analytical Separations by High Voltage Paper Electrophoresis. Aminoacids in Protein Hydrolyasates. *Biochem.J.*, 81: 606-613.

BAR-AKIVA, A. (1971) - Functional Aspects of Mineral Nutrients in Use for the Evaluation of Plant Nutrient Requirement, in: Recent Advances in Plant Nutrition. Gordon and Breach Publishers, NY, USA.

_____, *M. KAPLAN and R. LAVON (1967)* - The Use of a Biochemical Indicator for Diagnosing Micronutrient Deficiencies of Grape fruit Trees Under Field Conditions. *Agrochimica*, 11: 285-288.

BARBER, S.A. (1968) - Mechanism of Potassium Absorption by Plants, in: The Role of Potassium in Agriculture, pgs. 293-310. Eds.: V. J. KILMER, S.E. YOUNTS and N.C. BRADY. Published by American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin, USA.

- BARKER, A.V. e R. BRADFELD (1963) - Effect of Potassium and Nitrogen on the Free Amino Acid Content of Corn Plants. *Agron.J.*, 55: 465-470.
- _____, D.N. MAYNARD e W.H. LACHMAN (1967) - Induction of Tomato Stem and Leaf Lesions, and Potassium Deficiency, by Excessive Ammonium Nutrition. *Soil Sci.*, 103: 319-327.
- BASSO, L.C. (1973) - Significado Bioquímico da Deficiência de Potássio na Formação de Aminas em Gergelim (*Sesamum indicum* L.). Tese apresentada à Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu para obtenção do título de Doutor em Ciências. Botucatu, SP.
- _____, e O.J. CROCOMO (1974) - Accumulation of Putrescine and Related Aminoacids in Potassium-deficient *Sesamum*. *Phytochemistry* (Em publicação).
- BOULTER, D. (1970) - Protein Synthesis in Plants. *Ann.Rev.Plant Physiol.*, 21: 93-114.
- BRAY, G.A. (1960) - A Simple Efficient Liquid Scintillator for Counting Aqueous Solution in a Liquid Scintillation Counter. *Annal. Biochem.*, 1: 279-285.
- CHEVALIER, M. (1971) - Principal Aspects of the Potassium Nutrition in Plants. *Potash Review*. Subject 16, 53th suite.
- CHINARD, F.P. (1952) - Photometric Estimation of Proline and Ornithine. *J.Biol.Chem.*, 199: 91.
- CLARK, H.E. (1936) - Effect of Ammonium and Nitrate Nitrogen on the Composition of Tomato Plant. *Plant Physiol.*, 11: 5-24.

COBRA NETTO, A., W. R. ACCORSI e E. MALAVOLTA (1971) - Estudos sobre a Nutrição Mineral do Feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L., var. Roxinho). Anais da E.S.A. "Luiz de Queiroz", vol. XXVIII, pgs. 257-274. Piracicaba, SP.

COHEN, S. S. (1971) - Introduction to the Polyamines. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, NJ, USA.

CROCOMO, O. J. (1974) - Recentes Progressos em Bioquímica de Plantas. Ciência e Cultura, vol. 26(2): 128-137.

_____ e C. ROSSI (1967) - Determinação Quantitativa de Putrescina por Cromatografia em Papel de Filtro. Anais da E.S.A. "Luiz de Queiroz", vol. XXIV, pgs. 131-140.

_____, L. C. BASSO e O. G. BRASIL (1970) - Formation of N-carbamyl putrescine from Citrulline in *Sesamum*. Phytochem., 9: 1487-1489.

DEOSTHALE, Y. G., K. VISWESWAR RAO e K. C. PANT (1972) - Influence of the Levels of N Fertilizer on the Yield, Protein and Amino Acids of Pearl-millet (*Pennisetum typhoides* (Burm.f.) Stapf and C.E. Hubb.). Indian J. Agric. Sci., 42: 872-876.

EATON, S. V. (1952) - Effects of Potassium Deficiency on Growth and Metabolism of Sunflower Plants. Bot. Gaz., 114: 165-180.

EVANS, H. J. e G. J. SORGER (1966) - Role of Mineral Elements with Emphasis on the Univalent Cations. Ann. Rev. Plant Physiol., 17: 47-76.

FOWDEN, L. (1965) - Origins of the Aminoacids, in: Plant Biochemistry, chapter 16, pgs. 361-390. Eds.: J. BONNER and J. E. VARNER. Academic Press, NY.

- GAUCH, H.G. (1972) - Roles of Macronutrients in Higher Plants, in: Inorganic Plant Nutrition. Dowden, Hutchinson and Ross, Inc. Stroudsburg, Pen., USA.
- GILBOE, D.D. e J.N.WILLIAMS (1956) - Evaluation of the Sakaguchi Reaction for Quantitative Determination of Arginine. Proc. Soc.Biol.Med., 91: 535-538.
- GOBBELAAR, N. e F.C.STEWARD (1953) - Pipecolic Acid in *Phaseolus vulgaris*: Evidence on its Derivation from Lysine. J.Am.Chem. Soc., 75: 4341.
- HAAG, H.P., E.MALAVOLTA, H.GARGANTINI e H.G.BLANCO (1967) - Absorção de Nutrientes pela Cultura do Feijoeiro. Bragantia, 26(30): 381-392.
- HELLER, R. (1956) - Le Potassium en Culture des Tissus, in: Potassium Symposium. Ed.: International Potash Institute. Bern, Switzerland.
- HOAGLAND, D.R. e D.I.ARNON (1950) - The Water Culture Method for Growing Plants Without Soil. Calif.Agric.Exp.Sta., California, Circ. 347.
- HOFFMAN, M. e R.M.SAMISH (1971) - Free Amines Content in Fruit Tree Organs as an Indicator of the Nutritional Status with Respect Potassium, in: Recent Advances in Plant Nutrition. Gordon and Breach Sciences Publishers, NY, USA.
- ITZAKI, R.F. e D.M.GILL (1964) - A Micro-Biuret Method for Estimating Proteins. Anal.Biochem., 9: 401-410.
- JACOBSON, L. (1951) - Maintenance of Iron Supply in Nutrient Solution by a Single Addition of Ferric Potassium Ethilenediaminete-tracetate (EDTA). Plant Physiol., 26: 411.

- JACKSON, W.A. e R.J.VOLK (1968)* - Role of Potassium in Photosynthesis and Respiration, in: The Role of Potassium in Agriculture, pgs. 109-145. Eds.: V.J.KILMER, S.E.YOUNTS and N.C.BRADY. Published by American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin, USA.
- LOCKHART, J.A. (1965)* - Cell Extension, in: Plant Biochemistry. Eds.: J.BONNER and J.A.VARNER. Academic Press, NY, USA.
- LOWY, P.H. (1953)* - The Conversion of Lysine to Pimelic Acid by *Phaseolus vulgaris*. Arch.Biochem.Biophys., 47: 228.
- LUBIN, M. e H.L.ENNIS (1964)* - On the Role of Intracellular Potassium in Protein Synthesis. Biochem.Biophys.Acta, 80: 614-631.
- MAC' GREGOR, J.M., L.TASKOVITCH e W.P.MARTIN (1961)* - Effect of Phosphate and Potash on Amino Acid Content of Alfalfa. Agron. J., 53: 215-216.
- MAC' LEOD, A.B. e M.SUZUKI (1967)* - Effect of Potassium on the Content of Amino Acids in Alfalfa and Orchardgrass Grown with NO_3^- and NH_4^+ Nitrogen in Nutrient Solution Culture. Crop Sci., 7: 599-605.
- MAGNITSKI, K.P. (1961)* - The Diagnosis of Mineral Nutrition of Plants According to Chemical Composition of Leaves, in: Plant Analysis and Fertilizer Problems. Ed.: American Institute of Biological Sciences. Washington 6, DC, USA.
- MALAVOLTA, E. (1964)* - Curso Interamericano de Diagnose Foliar. IICA. E.S.A."Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP. (Mimeografado).

- MUNSON, R.D. (1968) - Interaction of Potassium and Other Ions, in: The Role of Potassium in Agriculture, pg. 321-353. Eds.: V. J. KILMER, S.E. YOUNTS and N.C. BRADY. Published by American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America. Madison, Winsconsin, USA.
- NGUYEN, T.S., R. PAGUIN, R.J. O' GRADY e G.J. OUELLETE (1972) - Influence of Nitrogen, Phosphate and Potassium Fertilization on the Incorporation of Aminoacids into Proteins and on Yields of Lucerne. *Canad. J. Plant Sci.*, 52(1): 41-52.
- NIGAN, S.N. e W.B. McCONNEL (1963) - Studies on Wheat Plants Using Carbon-14 Compounds. XIX: Observations on the Metabolism of Lysine-¹⁴C. *Canad. J. Biochem. Physiol.*, 41: 1367-1371.
- NITSOS, R.E. e H.J. EVANS (1966) - Effects of Univalent Cations on the Inductive Formation of Nitrate Reductase. *Plant Physiol.*, 41: 1499-1504.
- PESEK, J. (1968) - Potassium Nutrition of Soybeans and Corn, in: The Role of Potassium in Agriculture, pgs. Eds.: V.J. KILMER, N. C. YOUNTS and N.C. BRADY. Published by American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America. Madison, Winsconsin, USA.
- PIMENTEL GOMES, F. (1970) - Curso de Estatística Experimental. Livraria Nobel S.A. SP.
- RICHARDS, F.J. (1956) - Some Aspects of Potassium Deficiency in Plants, in: Potassium Symposium. Ed.: International Potash Institute. Bern, Switzerland.
- e E. BERNER Jr. (1954) - Physiological Studies in Plant Nutrition: XVII. A General Survey of the Free Aminoacids of Barley Leaves as Affected by Mineral Nutrition with Special Reference to Potassium Supply. *Ann. Bot.*, 18: 15-33.

RICHARDS, F.J. e R.G. COLEMAN (1952) - Occurrence of Putrescine in Potassium Deficient Barley. *Nature*, 170: 460.

SHAFER, J. e J.F. THOMPSON (1968) - Arginine Desimidase in *Chlorella*. *Phytochem.*, 7: 391-399.

SMITH, T.A. (1963) - L-arginine Carboxy-liase of Higher Plants and its Relation to Potassium Nutrition. *Phytochem.*, 2: 241-252.

_____. (1965) - N-carbamylputrescine Amidohidrolase of Higher Plants and its Relation to Potassium Nutrition. *Phytochem.* 4: 599-607.

_____. (1967) - The Biosynthesis of Putrescine in Higher Plants and its Relation to Potassium Nutrition. *Potash Review*, subject 3, 25th suite.

_____. (1969) - Agmatine Iminohidrolase in Maize. *Phytochem.* 8: 2111-2117.

_____. (1973) - Amine Levels in Mineral-deficient *Hordeum vulgare* Leaves. *Phytochem.*, 12(9): 2093-2100.

_____. e J.L. GARRAWAY (1964) - N-carbamylputrescine - An Intermediate in the Formation of Putrescine by Barley. *Phytochem.*, 3: 23-26.

_____. e F.J. RICHARDS (1962) - The Biosynthesis of Putrescine in Higher Plants and its Relation to Potassium Nutrition. *Biochem. J.*, 84: 292-294.

SODEK, L. e C.M. WILSON (1970) - Incorporation of Leucine-¹⁴C and Lysine-¹⁴C into Protein in the Developing Endosperm of Normal and Opaque-2 Corn. *Arch. Biochem. Biophys.*, 140: 29-38.

TEEL, M.R. (1968) - The Effect of Potassium on the Organic Acids and Non protein Nitrogen Content of Plant Tissue, in: The Role of Potassium in Agriculture, pgs. 165-168. Eds.: V.J. KILMER, S.E. YOUNTS and N.C. BRADY. Published by American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin, USA.

WALL, E.M. (1940) - The Role of Potassium in Plants: III. Nitrogen and Carbohydrate Metabolism in Potassium Deficient Plants Supplied Either Nitrate or Ammonium Nitrogen. *Soil Sci.*, 49: 393-408.

WEBSTER, G.C. (1956) - Effects of Monovalent Cations on the Incorporation of Aminoacids into Protein. *Biochem. Biophys. Acta*, 20: 565-566.

WILSON, R.W. (1971) - The Role of Univalent Cations in Enzyme Systems, in: Recent Advances in Plant Nutrition. Gordon and Breach Science Publishers, NY, USA.