

OCORRÊNCIA DE PUTRESCINA EM FOLHAS DE MILHO, Var. 'PIRANÃO' DEFICIENTES EM POTÁSSIO*

C. A. Vasconcellos
J. M. Fortes
José Fernandes
Z. T. Santos
L. C. Basso
E. Malavolta**

Em condições de carência de potássio, acumulam-se nas folhas compostos nitrogenados solúveis, inclusive as aminas, putrescina e agmatina.

RICHARDS e COLEMAN (7) identificaram a putrescina como a substância acumulada em folhas de cevada com deficiência de K^+ . Estes pesquisadores observaram que o conteúdo de putrescina cresceu quando houve aumento dos sintomas visuais característicos da deficiência do nutriente (necrose marginal e das pontas das folhas), cujas concentrações atingiram 0,15 a 0,20% do peso da planta seca. Desde então, tem sido dada considerável atenção à determinação da putrescina como meio adequado para se avaliar as condições nutricionais da planta de milho, com vistas à correção de deficiências.

Smith, citado por BLACK (1), testou 13 espécies, incluindo cevada, e encontrou putrescina e agmatina em todas elas, tanto na ausência quanto na presença do potássio. Em 11 espécies, a deficiência de K^+ conduziu a um aumento na concentração de putrescina e, em 6 espécies, na de agmatina. As que não acumularam agmatina nem putrescina possuíam altos teores de arginina, em condições de deficiência de K^+ .

Embora tenha sido dada maior ênfase às correlações entre as deficiências de K^+ e aumento de putrescina, alguns autores têm demonstrado correlações com outros elementos.

TAKAHASHI e YOSHIDA (9) encontraram alta concentração de putrescina tanto em planta deficiente em fósforo quanto em potássio. Resultados semelhantes foram encontrados por SINCLAIR (8) na cultura da cevada.

BASSO e SMITH (2) encontraram acumulação de putrescina em folha de cevada, ervilha e *Vicia faba*, associada tanto com a ocorrência de deficiência de potássio quanto com a de magnésio.

Atualmente, pode-se resumir a origem da putrescina (em tecidos deficientes de K^+) partindo-se do ciclo da uréia: a ornitina fornece diretamente a putresci-

* Recebido para publicação em 05-09-1975.

** Respectivamente, Eng.º-Agr.º da EMBRAPA, Prof. Adjunto da Universidade Federal de Viçosa, Eng.º-Agr.º do PLANALSUCAR, Eng.º-Agr.º da EMBRAPA, Professor Assistente do Dept.º de Química e CENA, ESA «Luiz de Queiroz», USP, Piracicaba e Prof. Catedrático do Dept.º de Química e CENA, ESA, «Luiz de Queiroz», USP, Piracicaba.

na; a citrulina se converte em N-carbamil putrescina e esta em putrescina; a arginina, em agmatina, N-carbamil putrescina e putrescina (3,5).

O objetivo do presente trabalho é estudar o teor de putrescina em milho, cultivar 'Piranão', cultivado em solução nutritiva tipo HOAGLAND e ARNON (6), sob níveis decrescentes de K^+ .

Material e Métodos. Plântulas de milho foram obtidas a partir da germinação em substrato de vermiculita. Em seguida, foram transferidas para solução nutritiva completa de HOAGLAND e ARNON (6), diluída a 1/5 e arejada.

Aos 20 dias após a germinação, as plântulas foram transferidas para vasos de 2,5 litros, que receberam as soluções nutritivas correspondentes aos tratamentos, em duas repetições.

As soluções nutritivas utilizadas foram:

Solução A - Completa

ml/litro de solução

KH_2PO_4 M (p.m.136,09) 1

KNO_3 (p.m.101,11) 5

$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ M (p.m.236,15) 5

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ M (p.m.246,48) 2

Solução B - Sem potássio

ml/litro de solução

$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ M 5

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ M 2

$Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O$ 0,05 M 10

Solução C - Com potássio

KNO_3 M 5

Solução D - Micronutrientes

g/litro d'água

H_3BO_3 2,86

$MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 1,81

$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,22

$CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0,08

$H_2MIO_4 \cdot H_2O$ 0,02

Solução E - Fe EDTA

Por litro d'água

Ácido etilenodiamino tetracético 26,1 g

NaOHN (= 40 g/l) 268,0 ml

$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 24,9 g

Aos 35 dias de idade, as plantas foram transferidas para vasos com capacidade para 20 litros de solução nutritiva.

A coleta do material para análises de putrescina foi efetuada quando as plantas contavam 79 dias de idade.

A putrescina foi determinada em amostras colhidas no terço médio do limbo das folhas intermediárias (sem a nervura central), utilizando-se 5 gramas de folhas finamente cortadas e homogeneizadas, com 50 ml de etanol a 80% (V/V), a quente, em OMNI-MIXER, durante 2 minutos. Em seguida centrifugou-se a 5.600 rpm, durante 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para funil de separação e precipitação com CaCl_4 para remoção dos pigmentos da amostra.

A fração alcoólica foi cromatografada em resina de troca catiônica DOWEX-50W x 8 (H), 100 a 200 mesh.

A putrescina e demais aminas foram extraídas da resina com 20 ml de solução saturada de $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$. Posteriormente, esta fração foi evaporada até resíduo seco; o resíduo, retomado com 1 ml de HCl 0,05 N e alíquotas de 20 ml, foi cromatografado em papel de filtro Whatman n.º 1, usando-se como solvente uma mistura de N-butanol-metil etilcetona, HN_3 e H_2O , na proporção de 5:3:1:1.

Os tratamentos foram assim programados:

| <i>Tratamentos</i> | <i>Por litro de solução</i> |
|--|-----------------------------|
| <i>Trat. 1 - Sem potássio</i> | |
| Sol. B | 17 ml |
| Sol. D | 1 ml |
| Sol. E | 1 ml |
| <i>Trat. 2 - 0,05 k (9,75 mg k/litro)</i> | <i>Por litro de solução</i> |
| Sol. B | 17 ml |
| Sol. C | 0,25 ml |
| Sol. D | 1 ml |
| Sol. E | 1 ml |
| <i>Trat. 3 - 0,50 k (97,5 mg k/litro)</i> | <i>Por litro de solução</i> |
| Sol. B | 17 ml |
| Sol. C | 2,5 ml |
| Sol. D | 1 ml |
| Sol. E | 1 ml |
| <i>Trat. 4 - 1,20 k (234,0 mg k/litro)</i> | |
| Sol. A | 13 ml |
| Sol. D | 1 ml |
| Sol. E | 1 ml |
| <i>Trat. 5 - 2,00 k (390,0 mg k/litro)</i> | |
| Sol. B | 17 ml |
| Sol. C | 10,0 ml |
| Sol. D | 1 ml |
| Sol. E | 1 ml |

A revelação do cromatograma foi efetuada com solução alcoólica de Ninhidrina a 10% e aquecimento em estufa a 60-70°C, durante 10 minutos.

As manchas correspondentes à putrescina foram eluídas em 5 ml de etanol a 50%, tamponado a pH 7,0, com Na_2HPO_4 , numa concentração de 0,025 M.

Após um período de eluição de 18 horas na obscuridade, a densidade ótica foi determinada em fotocolorímetro Klitt-Summerson, usando-se filtro verde (n.º 54).

A reta padrão foi elaborada com putrescina quimicamente pura, que foi também aplicada e cromatografada em papel de filtro.

Resultados e discussão. Sob condições de deficiência de potássio (e alguns outros elementos), há um aumento na atividade das enzimas carboxilases e amidoidrolases, resultando em alta acumulação de putrescina e agmatina.

Nos resultados obtidos (Quadro 1 e Figura 1), em análise do acúmulo de putrescina em relação à deficiência de K na planta de milho (cultivar 'Piranão'), pôde-se verificar que o índice de putrescina elevou-se na ordem de 52,50 vezes o teor da amina em plantas cultivadas na presença de nível de K considerado adequado (234 mg de K/litro) em solução nutritiva.

QUADRO 1 - Teores de putrescina no milho, em função do suprimento de potássio à solução nutritiva

| NÍVEIS DE POTÁSSIO mg/litro de solução nutritiva | TEORES DE PUTRESCINA µM/g de material vege- tal |
|--|---|
| 0,00 | 3,15 |
| 9,75 | 0,18 |
| 97,50 | 0,12 |
| 234,00 | 0,06 |
| 390,00 | 0,06 |

Para a cevada, SINCLAIR (8) apresenta uma variação de 49:1.

A dose de 390 mg de K/litro de solução nutritiva não foi suficiente para alterar o teor de putrescina em relação ao tratamento controle (234 mg de K/litro).

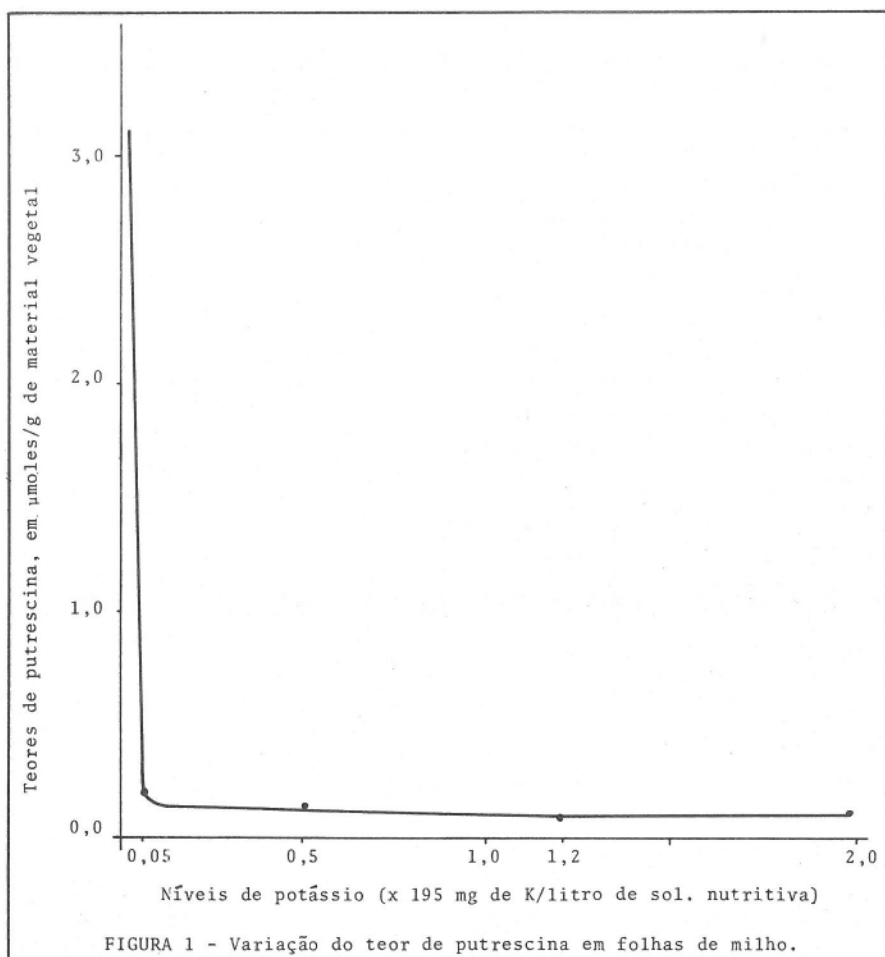
Apesar desses resultados estarem próximos aos do limite de sensibilidade do método — 0,05 µM/g de material vegetal, conforme CRÓCOMO e ROSSI (4) — o método parece ter sido adequado para avaliar a putrescina (e a conseqüente deficiência de K) em folhas do cultivar de milho estudado.

Outro aspecto a ser salientado é a queda brusca do teor de putrescina entre os níveis 0,00 e 9,75 mg de K/litro de solução nutritiva. Esta queda não se correlaciona com a deficiência quantitativa de potássio apresentada pela planta. Provavelmente, um estudo com níveis menores de K, associado com determinações de agmatina, poderia indicar mais precisamente a presença de aminas em tecidos deficientes de K.

Deve-se, no momento, salientar as observações de SINCLAIR (8). Este autor, usando metodologia semelhante, admite uma margem de erro entre amostragens da base para a ponta da folha de cevada. Houve um aumento considerável no teor de aminas da base para a ponta das folhas, com teores variáveis de putrescina em função do estágio da folha. Para a cevada, estipulou um teor médio de 0,21 micromoles de putrescina por grama de material vegetal.

SUMMARY

The purpose of this work was to study putrescine content of maize (*Zea mays* L. cv. 'Piranão') grown in nutrient solutions.



Sample of 5 g of leaf material, taken from the middle third of intermediate leaves (excluding the midrib) when the plants were 79 days old, were used. The level of putrescine was determined chromatographically.

Plants were grown in the HOAGLAND and ARNON nutrient solution, with levels of potassium varied as follows: 0, 9.75, 97.5, 234.0, and 390.0 mg/l.

In the complete absence of potassium, there was a considerable accumulation of putrescine in the leaves. There was an increase in amine content of 52.50 times that of leaves from plants grown in the solution with an adequate level of potassium (234 mg/l of solution).

The putrescine content of samples from plants receiving adequate potassium was $0.60 \mu\text{moles/g}$ of material.

With 9.75 mg of potassium per liter of solution, the putrescine content fell abruptly, implying the need for related studies with smaller doses of potassium and agmatine determinations.

LITERATURA CITADA

1. BLACK, C.A. Potassium. In BLACK, C.A. *Soil plant relationships*. 2. ed. New York, John Wiley Sons, 1968, p. 654-773.

2. BASSO, L.C. & SMITH, T.A. Effect of mineral deficiency on amine formation in higher plants. *Phytochemistry* 14(6):875-883. 1974.
3. CROCOMO, O.J. Recentes progressos em bioquímica de plantas. *Ciência e Cultura*. 26(2):128-137. 1974.
4. CROCOMO, O.J. & ROSSI, C. Determinação quantitativa de putrescina por cromatografia em papel de filtro. *Anais da Esc. Supe. Agric. «Luiz de Queiroz»* 24:131-136. 1967.
5. CROCOMO, O.J.; BASSO, L.C. & BRASIL, O.G. Formation of N-carbamyl putrescina from citruline in *Sesamum*. *Phytochemistry* 9(7):1485-1487. 1970.
6. HOAGLAND, D.R. & ARNON, D.I. *The water culture method for growing plants without soil*. Calif. Agr. Exp. Sta., 1950. (Circ. 247).
7. RICHARDKS, F.J. & COLEMAN, R.G. Occurrence of putrescine in potassium deficient barley. *Nature* 170(4324): 460. 1952.
8. SINCLAIR, C. The level and distribution of amines in barley as affected by potassium nutrition, arginine level, temperature fluctuation and mildew infection. *Plant and Soil* 30(3): 423-438. 1969.
9. TAKAHASSHI, T. & YOSHIDA, D. Occurrence of putrescine in the tabaco plant with special reference to the nutrient deficiency. *Soil an Plant Food* 6: 93. 1960.