

**Estudo Sôbre a Distribuição do S³⁵ em
Cafeeiro (*Coffea arabica* L, Bourbonn) (1)(2)**

**OTTO JESU CROCOMO
LOUIZ NEPTUNE MENARD
E. S. A "Luz de Queiroz"**

(1) Recebido para publicação em 12/5/1961.

(2) Trabalho realizado com auxílio da Rockefeller Foundation, do Instituto Brasileiro do Café e do Conselho Nacional de Pesquisas (C. N. Pq.), Brasil. Apresentado na XII Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, Julho, 1960.

1. INTRODUÇÃO

O conceito clássico de que é a raiz o único órgão concernente com a absorção de nutrientes pelas plantas tem sido alterado desde há algum tempo, uma vez que vários experimentos têm demonstrado que as folhas também absorvem substâncias químicas necessárias para o seu bom crescimento e desenvolvimento (ver CROCOMO e NEPTUNE MENARD, 1959; NEPTUNE MENARD e CROCOMO, 1959). O uso de radioisótopos tem mostrado a vantagem da aplicação de nutrientes por via foliar em plantas de interesse econômico, como o caso do fósforo (MALAVOLTA et al., 1957) e da ureia- C^{14} , fonte de nitrogênio e carbono (CROCOMO, 1959; 1960) e tantos outros casos, auxiliando grandemente na elucidação do metabolismo dos vegetais (CROCOMO, 1960). Quanto ao enxôfre, se bem que a sua absorção, como sulfato, usualmente se processe através das raízes das plantas, esse elemento também pode ser absorvido pelas folhas, como em 1944 foi demonstrado por THOMAS et al. Esse trabalho foi conduzido para se certificar de absorção foliar de SO^2 . Sobre esse meio de se dar às plantas, principalmente ao cafeeiro, o enxôfre necessário para o seu bom crescimento e desenvolvimento parece nada mais haver na literatura. Resolvemos, então, estudar a fisiologia do enxôfre em cafeeiro, tanto em condições de campo como de casa de vegetação. Para tanto, utilizamos sulfato de potássio marcado com enxôfre radioativo (S^{35}), empregando a técnica de pincelamento da página inferior das folhas de café ou fornecendo-o na própria solução nutritiva ou ainda por pulverização foliar no campo.

Ora, do fato de que as plantas absorvem nutrientes — pelas folhas segue-se que elas também por esse meio podem perdê-los. Aliás, já em 1804 SAUSSURE (cf. TUKEY et al., 1958) observou que a água, na qual êle colocava folhas de plantas, continha sais alcalinos. Desde os finais do século passado, porém, é que esporadicamente têm aparecido referências a perdas de nutrientes pelas folhas, pela ação das chuvas. TUKEY et al., 1958 utilizando cerca de 10 radioisótopos demonstraram, em experimento de laboratório, a perda pelas folhas de nutrientes absorvidos pelas raízes de feijoeiro. No presente trabalho incluimos também alguns dedôs relacionados à lavagem de S^{35} das folhas de cafeeiro cultivado em solução nutritiva.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2. 1. *Experimento conduzido em Casa de Vegetação*

10 mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L., var. *Bourbon*), de seis meses de idade, foram mantidas em casa de vegetação, em solução nutritiva completa n.º 1, de HOAGLAND e ARNON, 1950. A fim de tornar possível uma visualização mais completa sôbre os resultados obtidos, na época de aplicação da solução de K²S³⁵O₄ as 10 "plantinhas" foram distribuídas em quatro grupos:

- a) 2 plantas para ensaio por pincelamento;
- b) 2 plantas para o ensaio no qual o S³⁵ era adicionado à solução nutritiva;
- c) 2 plantas para o estudo da migração por autoradiografia;
- d) 4 plantas destinadas ao estudo da lavagem do enxôfre.

No ensaio (a), S³⁵ foi pincelado ininterruptamente — nas páginas inferiores das fôlhas do 3.º par. Após 48 horas do término da aplicação, as plantinhas foram retiradas da solução nutritiva, suas raízes foram lavadas com solução de sulfato de potássio não radioativo, e divididas em suas partes constituintes: fôlhas acima do 3.º par (fôlhas novas); porção do caule acima do 3.º par; porção do caule abaixo do 3.º par; fôlhas abaixo do 3.º par (fôlhas velhas); raiz. As fôlhas ainda foram divididas em pecíolo, limbo e nervuras. As fôlhas do 3.º par foram colhidas e lavadas com sulfato de potássio e usadas para se testar quanto da radioatividade havia sido absorvida e quanto se distribuíra pela planta durante o período experimental

As várias porções foram pesadas e sêcas em estufa a 70-80°C, até pêso constante. Das mesmas foram feitos extratos nitroperclóricos, dos quais partes alíquotas foram retiradas para a detecção da atividade de S³⁵ em contador Geiger-Muller, tipo TGC-2, com janela de mica de 1,8 mg/cm², ligado a um "Autoscaler" da Tracerlab.

No ensaio (b), o S³⁵ foi fornecido diretamente na solução nutritiva e as "plantinhas" foram deixadas em contacto

com o mesmo durante 15 dias. Findo êsse tempo as “plantinhas” foram colhidas e tratadas como para o ensaio (a), porém as folhas não foram subdivididas.

No ensaio (c), as “plantinhas” ficaram durante 15 dias em contacto com S^{35} , findo os quais as mesmas foram retiradas da solução, suas raízes lavadas com K_2SO_4 e secas como para herbário. Em seguida, fez-se a autoradiografia das mesmas, justapondo-se-as a uma chapa de Raio-X.

No ensaio (d), as “plantinhas” receberam o mesmo tratamento como para o ensaio anterior, sendo que, após 15 dias, uma folha de cada par foi colhida (para servir como testemunha) e as “plantinhas” sofreram uma chuva artificial durante 5 horas com uma intensidade de 2 l/hora. As folhas foram então separadas e feitos os extratos nitro-perclóricos das mesmas.

2. 2. *Experimento conduzido no Campo*

2 cafeeiros (*Coffea arabica* L., var. Mundo Novo) de 4 anos de idade foram pulverizados com solução a 1% de sulfato de potássio marcado com S^{35} . As pulverizações foram realizadas pela manhã, durante 3 vezes, com espaço de 7 dias entre as mesmas, utilizando-se 1 litro de solução por cafeeiro, por pulverização. Folhas novas, formadas após as pulverizações foram colhidas em dois períodos: 1 mês e 2 meses após a última pulverização. Nas mesmas épocas procedeu-se também à colheita dos grãos de café. Das folhas e dos grãos foram feitos extratos nitroperclóricos, contando-se nos mesmos a atividade de S^{35} .

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3. 1. *Experimento Conduzido em Casa de Vegetação*

(a) *Pincelamento da solução de sulfato de potássio S^{35}*

— A análise das folhas do 3.º par tratadas com S^{35} revelou a absorção de toda a atividade fornecida, uma vez que não se detectou radioatividade na água de lavagem das referidas folhas. Após 48 horas, da atividade incorporada nessas folhas somente cerca de 32% da mesma se distribuiu pelas várias partes da planta (Quadro I), o que evidencia a pouca mobilidade do enxôfre no interior da planta.

QUADRO 1

	1. ^a Repeti- ção	2. ^a Repeti- ção	MÉDIA
Pêso fresco de 4 folhas (g)	3,102	3,051	3,076
Pêso seco das folhas (g)	1,21	1,18	1,19
Atividade incorporada/4 fls. (cpm)	39,6 x 10 ⁴	39,6 x 10 ⁴	39,6 x 10 ⁴
	c. p. m./g pêso mat. seca		
Atividade incorporada	32,7 x 10 ⁴	33,5 x 10 ⁴	33,5 x 10 ⁴
ATIVIDADE RECUPERADA APÓS 48 hs.			
1. Nas folhas tratadas	22,2 x 10 ⁴	22,8 x 10 ⁴	22,5 x 10 ⁴
2. Distribuídas pela planta	10,5 x 10 ⁴	10,7 x 10 ⁴	10,6 x 10 ⁴

Atividade de S³⁵ incorporada e distribuída após 48 horas,
pela planta de café.

Deve-se fazer notar, porém, que das folhas do 3.^o par o S³⁵ migrou principalmente para a porção acima das mesmas, concentrando-se nas folhas novas, partes da planta que estão em formação e que por conseguinte, necessitam de elementos para um rápido crescimento. Essa retenção do nutriente é que seria responsável pela pouca mobilidade do enxôfre. A porção inferior do caule, as folhas velhas e as raízes apresentaram-se com menor atividades de S³⁵. Nas folhas, o pecíolo foi a região que maior radioatividade apresentou, seguido pelas nervuras e pelo limbo. A menor concentração do radioisótopo foi detectada nas raízes (Quadro II e III).

QUADRO 2

	1. ^a Repeti- ção	2. ^a Repeti- ção	MÉDIA
c.p.m./g pêso mat. sêca			
Fôlhas novas			
1. Pecíolo	2,27 x 10 ⁴	2,25 x 10 ⁴	2,26 x 10 ⁴
2. Nervuras	1,53 x 10 ⁴	1,62 x 10 ⁴	1,60 x 10 ⁴
3. Limbo	1,01 x 10 ⁴	1,18 x 10 ⁴	1,09 x 10 ⁴
Fôlhas velhas			
1. Pecíolo	1,49 x 10 ⁴	1,43 x 10 ⁴	1,46 x 10 ⁴
2. Nervuras	1,19 x 10 ⁴	1,22 x 10 ⁴	1,20 x 10 ⁴
3. Limbo	0,89 x 10 ⁴	0,97 x 10 ⁴	0,93 x 10 ⁴
Cauce			
1. Porção superior	0,82 x 10 ⁴	0,92 x 10 ⁴	0,87 x 10 ⁴
2. Porção inferior	0,64 x 10 ⁴	0,58 x 10 ⁴	0,61 x 10 ⁴
Raízes	0,52 x 10 ⁴	0,47 x 10 ⁴	0,49 x 10 ⁴

Distribuição da radioatividade pelas várias partes das plantas de café, 48 horas após o pincelamento da solução de S³⁵ às páginas inferiores do 3.^o par de fôlhas.

QUADRO 3

PARTES DA PLANTA	ATIVIDADE DE S ³⁵ %
FÓLHAS NOVAS	
1. Pecíolo	21,32
2. Nervuras	15,09
3. Limbo	10,28
TOTAL	46,69
FÓLHAS VELHAS	
1. Pecíolo	13,77
2. Nervuras	11,33
3. Limbo	8,77
TOTAL	33,87
CAULE	
1. Porção superior	8,20
2. Porção inferior	6,13
TOTAL	14,33
RAÍZES	4,62

Percentagem de incorporação de S³⁵ nas várias partes da planta.

(b) S³⁵ na solução nutritiva — Da atividade fornecida às “plantinhas” de café na solução nutritiva, cerca de 36% foi absorvida pelas raízes, após o período experimental de 15 dias (Quadro IV). Das raízes, que apresentaram maior concentração de enxôfre radioativo, o radioisótopo migrou para as várias partes da planta, decrescendo a sua distribuição das fôlhas mais velhas para as mais novas e destas para o caule

QUADRO 4

	1. ^a repetição	2. ^a repetição	Média
	c. p. m.		
Atividades fornecida	45,4 x 10 ⁴	45,4 x 10 ⁴	45,5 x 10 ⁴
Atividade recuperada na solução nutritiva	29,5 x 10 ⁴	28,9 x 10 ⁴	29,2 x 10 ⁴
Atividade absorvida em 15 dias	15,9 x 10 ⁴	16,5 x 10 ⁴	16,2 x 10 ⁴
Atividade de S ³⁵ absorvida pelas raízes das plantas de café			

QUADRO 5

Partes da planta	1. ^a repetição	2. ^a repetição	Média
	cpm/g pêso mat. sêca		
Fôlhas velhas	4,55 x 10 ⁴	4,45 x 10 ⁴	4,45 x 10 ⁴
Fôlhas novas	3,14 x 10 ⁴	3,53 x 10 ⁴	3,33 x 10 ⁴
Caule	2,50 x 10 ⁴	2,70 x 10 ⁴	2,60 x 10 ⁴
Raízes	5,40 x 10 ⁴	5,50 x 10 ⁴	5,45 x 10 ⁴
Distribuição da radioatividade pelas várias partes das plantas Café após 15 dias.			

QUADRO 6

	Atividade de S 35 %
Fôlhas velhas	27,77
Fôlhas novas	20,55
Caule	16,04
Raízes	33,64

Percentagem de incorporação de S³⁵ nas várias partes das plantas café após 15 dias.

Como se pode observar pelos dados obtidos, também neste ensaio se evidenciou a pouca mobilidade do enxofre de um para outro órgão da planta de café, sendo mesmo vagarosa a sua distribuição das fôlhas mais velhas para as mais novas (atente-se para o período experimental). Essa assertiva é demonstrada pelos dados do Quadro VII onde

tomando-se a atividade detectada nas raízes como índice 100, — as percentagens em relação à mesma decrescem das folhas mais velhas para as mais novas e destas para o caule.

QUADRO 7

PARTES DA PLANTA	ATIVIDADE DE S ³⁵ %
Fôlhas velhas	82,5
Fôlhas novas	61,1
Caule	47,6

Percentagem da atividade de S³⁵ detectada nas várias partes das plantas de café, tomando-se a atividade das raízes como índice 100.

(c) *Autoradiografia* — A autoradiografia das “plantinhas” de café que receberam S³⁵ na solução nutritiva, sendo o tempo experimental de 15 dias, veio corroborar os dados obtidos com os dois ensaios anteriores: concentração maior nas folhas do que no caule e naquelas a atividade decrescendo no pecíolo para as nervuras e destas para o limbo. As raízes, como era de se esperar pelo tipo do experimento, apresentaram maior atividade de S³⁵ que as demais partes da planta.

(d) *“Lavagem” do S³⁵* — A análise das folhas que sofreram chuva artificial demonstrou (Quadro VIII) a perda de cerca de 10,5% de S³⁵ absorvido pelas raízes de “plantinhas” de café mantidas em solução nutritiva. Essa percentagem de perda de enxôfre devido à “lavagem” enquadra-o dentro da classificação de nutrientes “moderadamente laváveis” das folhas, classificação essa dada por TUKEY et al., 1958.

QUADRO 8

	1. ^a repet.	2. ^a repet.	3. ^a repet.	repet. 4. ^a	Média
	c. p. m. / g pêsso mat. sêca				
Testemunha	3,33x10 ⁴	3,41x10 ⁴	3,37x10 ⁴	3,29x10 ⁴	3,32x10 ⁴
Após lavagem . .	2,96x10 ⁴	3,04x10 ⁴	2,98x10 ⁴	2,98x10 ⁴	2,97x10 ⁴

Atividade recuperada nas folhas de plantas de café que sofreram chuva artificial.

3. 2. *Experimento Conduzido no Campo*

Como se depreende dos dados do Quadro IX, há migração de S^{35} das folhas mais velhas para as folhas formadas subsequentes às pulverizações. Por ocasião das mesmas os cafeeiros tratados já apresentaram grãos em formação, nos quais, na época das amostragens, detectou-se atividade de S^{35} . Durante o período experimental e o período entre a última pulverização e a 1.^a e 2.^a amostragens, houve precipitação quase diariamente, o que fez com que esperássemos “lavagem” de nutrientes. Tal fato, se ocorreu, deve ter sido seguido por reabsorção de enxôfre, seja pelas próprias folhas mais velhas, seja através das raízes: o enxôfre lavado das folhas situadas nos ramos superiores seria levado pela água da chuva para as folhas mais velhas ou para o solo. Basta verificar os dados do Quadro IX referentes à 2.^a amostragem.

QUADRO 9

	1. ^a Amostragem	2. ^a Amostragem
	c.p.m./g pêsso mat. sêca	
	FÓLHAS	
1. ^a Repetição	14,4 x 10 ²	15,3 x 10 ²
2. ^a Repetição	14,6 x 10 ²	15,8 x 10 ²
3. ^a Repetição	15,2 x 10 ²	16,8 x 10 ²
4. ^a Repetição	15,4 x 10 ²	16,5 x 10 ²
MÉDIA	14,9 x 10 ²	16,5 x 10 ²
	GRÃOS	
1. ^a Repetição	9,3 x 10 ²	10,8 x 10 ²
2. ^a Repetição	8,8 x 10 ²	11,0 x 10 ²
3. ^a Repetição	8,7 x 10 ²	10,1 x 10 ²
4. ^a Repetição	9,4 x 10 ²	10,2 x 10 ²
MÉDIA	9,0 x 10 ²	10,2 x 10 ²

Atividade de S^{35} em folhas e grãos de cafeeiro apos 1 mês (1.^a amostragem) e 2 meses (2.^a amostragem) da última pulverização.

4. RESUMO

Com a finalidade de se conhecer a distribuição de S³⁵ em cafeeiro, o presente experimento foi conduzido em casa de vegetação e em campo. No primeiro caso "plantinhas" de café, de 6 meses de idade foram mantidas em solução nutritiva e receberam:

- a) S³⁵ na superfície inferior das fôlhas do 3.^o par;
- b) S³⁵ na solução.

No ensaio (a), as "plantinhas" foram divididas em suas partes constituintes (raízes, caule, fôlhas novas e fôlhas velhas), sendo que as fôlhas foram subdivididas em pecíolo, limbo e nervuras. O ensaio (b) era formado por 3 grupos de "plantinhas": — 1) estudo da migração, como em (a); 2) autoradiografia; 3) verificação da lavagem de S³⁵ das fôlhas, sob chuva artificial.

No experimento conduzido em campo utilizamos cafeeiros de 4 anos de idade e o enxôfre radioativo foi fornecido por pulverização foliar.

Os resultados demonstram a pouca mobilidade do enxôfre pela planta e que:

- 1) o S³⁵ migra das fôlhas velhas principalmente para as fôlhas novas e muito pouco para as raízes;
- 2) das raízes o S³⁵ se distribui para os demais órgãos da planta, concentrando-se principalmente nas fôlhas mais velhas;
- 3) os dados obtidos pela detecção da radioatividade nas várias partes da planta foram corroborados pela autoradiografia;
- 4) o enxôfre é lavado das fôlhas pela água das chuvas.

4. SUMMARY

This work was carried out in order to study the distribution of S³⁵ in higher plants, represented in this case by coffee (*Coffea arabica* L., var. Bourbon). Young coffee plants 6 months old were grown in the greenhouse in nutrient solution and received:

a) solution of S^{35} brushed in the lower surfaces of selected leaves;

b) solution of S^{35} in nutrient solution in order to be absorbed by roots.

In (a) procedure the plants were divided in their parts: roots, stems, young leaves and old leaves, and the leaves were divided in petiole, blade and midrib and veins.

In (b) procedure, we had three groups of plants for: 1) studies of translocation, like in (a); 2) radioautography; 3) study of leaching of S^{35} from leaves.

On the other hand, in the field experiment, 4 years old coffee plants received S^{35} that has been sprayed directly on the leaves.

The analysis showed a short translocation of S^{35} in the coffee plant and:

1) the S^{35} translocation is mainly from old leaves to newer leaves and very few to the stem and roots;

2) from roots the S^{35} gets to the other parts of the plant to the old leaves;

3) the autoradiography of the coffee plant showed the same results obtained with the analysis of radioactivity in the various parts of the plant;

4) S^{35} is leached from leaves by rainfall.

5. LITERATURA CITADA

CROCOMO, O. J.

1959 — Tese de Docência-Livre, E. S. A. "Luiz de Queiroz", Piracicaba, Mimeogr

CROCOMO, O. J.

1960 — Fir. n° 5 (Janciro).

CROCOMO, O. J. e L. Neptune Menard

1959 — Mecanismo de absorção de íons pelas plantas. C. A. L.Q., Piracicaba, mimeogr

HOAGLAND, D. e D. I. Armon

1950 — Calif. Agr. Exp. Sta., Berkeley, Calif., Circ. (347): 31

- MALAVOLTA, E., L. Neptune Menard, e W. L. Lott
1957 — Res. Comun. X Reun. An. S.B.P.C., São Paulo: 22.
- NEPTUNE MENARD, L. e O. J. Crocomo
1959 — Fir. n.º 2 (Outubro).
- THOMAS, M. D., R. H. Hendriks, L. C. Bryner e G. R. Hill
1944 — Plant Physiol. 19: 227.
- TUKEY, H. B., S. H. Wittwer e H. B. Tukey, Jr.
1958 — In Radioisotopes in scientific research IV: 304

