



## Comportamento bioquímico de plantas jovens de *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* afetadas por toxidez de boro <sup>(1)</sup>.

**Hélio José Medeiros Santos<sup>2</sup>; Daihany Moraes Callegari<sup>2</sup>; Peola Reis Sousa<sup>2</sup>; Analú Mara Ferreira dos Santos<sup>2</sup>; Paula Francyneth Nascimento Silva<sup>3</sup>; Elaine Maria Silva Guedes Lobato<sup>4</sup>**

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com apoio financeiro da Fundação Amazônia Paraense – FAPESPA.

<sup>(2)</sup> Estudantes de Engenharia Agrônoma da Universidade Federal Rural da Amazônia; Paragominas, Pará; Email:joshlio@yahoo.com.br; <sup>(3)</sup> Estudante de Engenharia Florestal; Universidade Federal Rural da Amazônia; <sup>(4)</sup> Professora adjunta I da Universidade Federal Rural da Amazônia; Paragominas, Pará.

**RESUMO:** O boro (B) desempenha funções importantes em processos biológicos das plantas, como a síntese e estruturação da parede celular, lignificação, respiração, síntese e estruturação de células-guarda, metabolismo e transporte de carboidratos, entre outras. No entanto, em quantidade acima da necessária pode causar problemas de toxidez afetando o comportamento bioquímico das plantas. Assim esta pesquisa. Objetivou-se avaliar o comportamento bioquímico de plantas jovens *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*, em função de níveis de B. O experimento foi realizado em casa de vegetação, na Universidade Federal Rural da Amazônia, Campus Paragominas. Os nutrientes foram fornecidos via solução nutritiva completa de Hoagland e Arnon (1950) modificada. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com cinco níveis de B (25; 50; 100; 150 e 250  $\mu\text{M}$  B) e cinco repetições. Utilizou-se como fonte o ácido bórico (17% de B), as unidades experimentais foram constituídas por vasos com capacidade de 3 litros, utilizando sílica como substrato. As variáveis analisadas foram Conteúdo de Extravasamento de eletrólitos, Aminoácidos totais, Prolina e pigmentos fotossintéticos, nas folhas de Paricá submetido a crescentes níveis de boro. Os níveis de Extravasamento de eletrólitos, Aminoácidos totais e Prolina apresentaram alterações significativas nos tratamentos a partir 150 $\mu\text{M}$  B. O excesso de boro promoveu resposta negativa nas plantas de paricá submetidas as crescentes doses de boro.

**Termos de indexação:** Micronutriente, Essências Florestais

### INTRODUÇÃO

O paricá (*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*) é uma espécie arbórea pertencente a família Caesalpiniaceae, ocorre naturalmente na Amazônia brasileira, nos Estado do Pará, Mato Grosso e Rondônia (Rosa, 2006). O boro (B) é um dos micronutrientes que mais limita o rendimento das culturas no Brasil, principalmente nas culturas cultivadas em solos de textura arenosa, onde o

micronutriente, tendo alta mobilidade no solo pode ser lixiviado no perfil (Gondim, 2009).

O B desempenha funções importantes em processos biológicos das plantas, como a síntese e estruturação da parede celular, lignificação, respiração, síntese e estruturação de células-guarda, metabolismo e transporte de carboidratos, além de, participar na divisão e diferenciação celular em tecidos meristemáticos, na maioria das plantas, não é redistribuído das folhas ou de outros órgãos para suprir as necessidades do crescimento. Esse micronutriente é translocado na planta, principalmente, pelo xilema, sendo a mobilidade no floema muito limitada (Sousa et al., 2010). Dessa forma o objetivo foi avaliar o comportamento bioquímico de plantas jovens *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*, em função de níveis de B.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### Condições experimentais

O Experimento foi realizado em casa de vegetação, na Universidade Federal Rural da Amazônia, Campus Paragominas.

#### Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, sendo constituído de cinco níveis de boro, com cinco repetições totalizando 25 unidades experimentais. Os tratamentos foram constituídos de ácido bórico (25; 50; 100; 150 e 250  $\mu\text{M}$  de B), fornecidos via solução nutritiva. As unidades experimentais foram constituídas por vasos com capacidade de 3 litros cada um, utilizando sílica como substrato.

#### Instalação e condução do experimento

As mudas foram mantidas durante 15 dias em viveiro com 50% de luminosidade até o transplântio. As mudas foram transplantadas para solução nutritiva com 50% (meia força) da solução completa e foram conduzidas durante 15 dias para aclimação das plantas. Após esse período as plantas foram submetidas a solução completa 100%, bem como foram aplicados os tratamentos. No intervalo de



renovação das soluções, o volume dos vasos foi completado com água destilada e calibrado o pH na faixa de 5,5 a 6,0 com base NaOH (0,1M), sempre que necessário. Utilizou-se a solução nutritiva completa de Hoagland e Arnon (1950) modificada, composta por  $\text{KNO}_3$  2,3 mol  $\text{L}^{-1}$ ,  $\text{CaNO}_3$  1,1 mol  $\text{L}^{-1}$ ,  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  0,6 mol  $\text{L}^{-1}$ ,  $\text{MgSO}_4$  1,7 mol  $\text{L}^{-1}$ , KCl - 0,3 mol  $\text{L}^{-1}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,2 mol  $\text{L}^{-1}$ , Micronutrientes 1,1 mol  $\text{L}^{-1}$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$  1,2 mol  $\text{L}^{-1}$ , Fe+EDTA 2,6 mol  $\text{L}^{-1}$ .

O extravasamento de eletrólitos foi mensurado de acordo com a metodologia de Gong et al. (1998). A quantificação dos aminoácidos solúveis totais foi executada a 570 nm de acordo com Peoples et al (1989). A quantificação de prolina foi realizada de acordo com a metodologia de Bates et al. (1973). A determinação dos pigmentos fotossintéticos foi realizado com 40 mg de tecido foliar, de acordo com a metodologia de Lichtenthaler e Buschmann (2001).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os crescentes níveis de boro apresentaram diferenças significativas nos valores encontrados para EL/Folha (**Figura 1 A**). Sendo constatado aumento nos tratamentos submetidos a 50, 100, 150 e 250  $\mu\text{M}$  B. O valor mais expressivo foi verificado no nível de 250  $\mu\text{M}$  B, sendo de 18, 6% quando comparado ao controle.

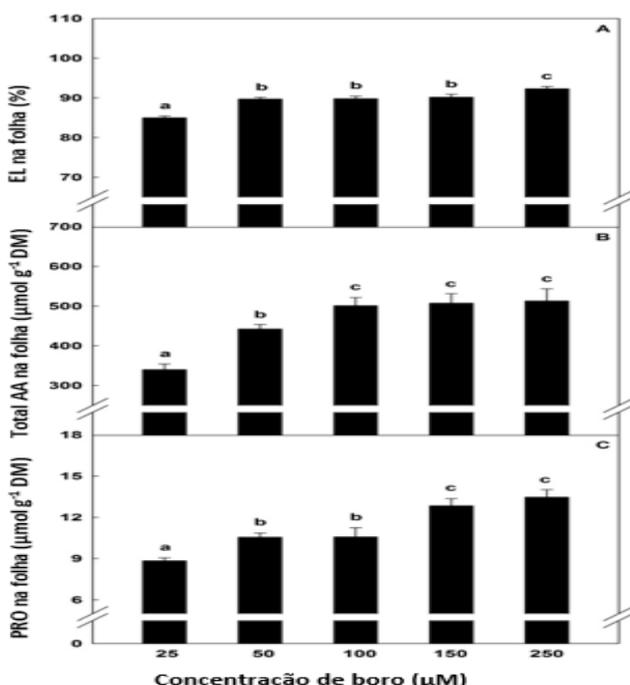


Figura 1: Extravasamento de eletrólitos (A); Aminoácidos totais (B); e Prolina (C), nas folhas de plantas jovens de *Schizolobium parahyba*, submetido a níveis de boro.

O aumento no extravasamento de eletrólitos (EL) nas folhas está ligado à acumulação de  $\text{H}_2\text{O}_2$  no interior das células após a toxidez por boro. O  $\text{H}_2\text{O}_2$  ocasiona a ruptura e aumento na permeabilidade das membranas, com conseqüente extravasamento do conteúdo celular e dos íons para o meio externo (Jambunathan, 2010).

Segundo Jambunathan (2010), a formação de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{OH}^-$  ocasionam taxas elevadas de EL, pois são altamente reativos, além de interferir sobre as atividades enzimáticas antioxidantes. Resultados semelhantes foram encontrados por Apostol e Zwiazek (2004), que observaram aumento no extravasamento de eletrólitos avaliando diferentes níveis de boro sobre o crescimento de *Pinus banksiana*.

Os níveis de aminoácidos totais na folha quando submetidos a crescentes níveis de boro (**Figura 1 B**), apresentaram modificações significativas nos tratamentos sob 50, 100, 150 e 250  $\mu\text{M}$  B, sendo observado aumento de 30,0, 47,3, 49,1 e 50,8%, respectivamente, quando comparados ao controle (25  $\mu\text{M}$  B). O acúmulo dos aminoácidos totais nos tecidos da folha pode estar associado às enzimas proteases e concomitantemente a inibição da síntese das proteínas, devido aos elevados níveis de boro. Segundo Paula et al. (2013), o aumento na atividade de enzimas proteases promove a quebra e conseqüente diminuição das proteínas, aumentando a quantidade de aminoácidos solúveis totais, que podem ser utilizados na síntese de outros aminoácidos, tal como a prolina. Cervilla, et al (2009) avaliando os efeitos da toxicidade B em plantas de *Solanum lycopersicum*, encontraram resultados semelhantes.

Os valores encontrados para os níveis de prolina (**Figura 1 C**) apresentaram variação significativa nos tratamentos sob 50, 100, 150 e 250  $\mu\text{M}$  B. Sendo verificados os aumentos mais expressivos nos níveis de 150 e 250  $\mu\text{M}$  B, sendo de 45,2 e 52,4%, respectivamente, em comparação ao controle (25  $\mu\text{M}$ ). O aumento na concentração de prolina pode estar ligado ao fato deste aminoácido atuar na desintoxicação de EROs e na proteção das membranas contra a peroxidação lipídica (Hong et al., 2000; Cervilla et al. 2012), sendo frequentemente relacionado como antagonista de EROS, visando atenuar o estresse oxidativo e evitar a morte celular. Entre outras atividades, a prolina protege a estrutura da proteína contra desnaturação e estabiliza as membranas celulares ao interagir com fosfolipídios Cervilla et al. (2007). Contreras et al. (2011) avaliando os efeitos de B e NaCl em plantas de *Solanum lycopersicum* verificaram resultados semelhantes a desta pesquisa.



O conteúdo de clorofila *a* apresentou alterações significativas nos tratamentos sob 150 e 250  $\mu\text{M}$  B (**Figura 2A**), sendo verificada diminuição de 10,1 e 15,8 %, respectivamente, em comparação ao controle.

A diminuição no conteúdo de CHL *a* nas plantas de *S. amazonicum* var. *parahyba* submetidas ao excesso de B pode estar relacionada à menor biossíntese deste pigmento influenciada pela limitada absorção e transporte de nitrogênio para as folhas. Segundo Streit et al. (2005) o nitrogênio é necessário para que ocorra a síntese da clorofila, pois a estrutura básica deste pigmento é composta por um íon de magnésio centralizado no anel de porfirina contendo quatro átomos de nitrogênio. Kent et al. (2004) estudando o comportamento de *Pinus banksiana* sob toxicidade de B observaram que o conteúdo de CHL *a* diminuiu.

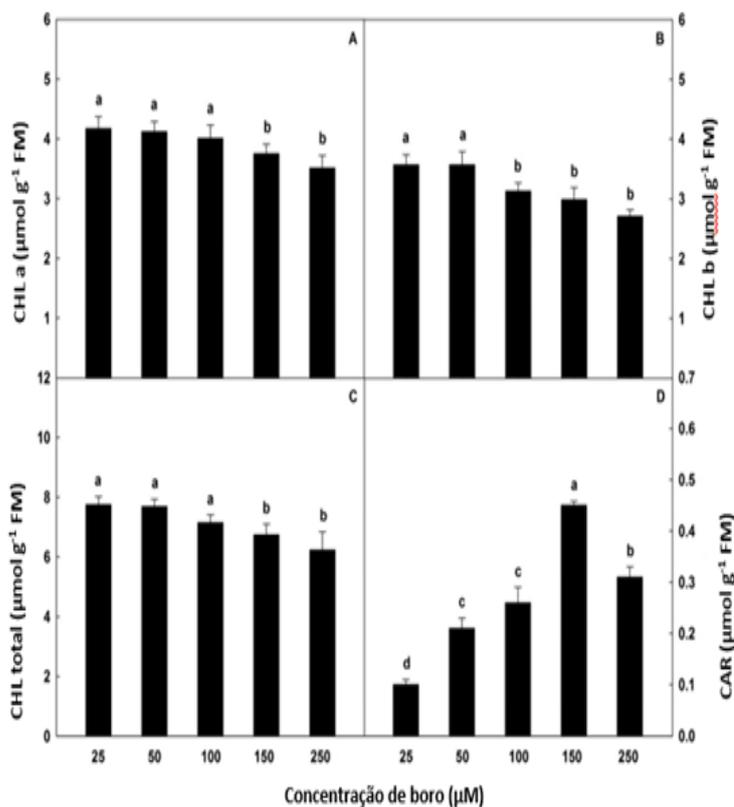


Figura 2: Concentração de Clorofila *a* (A); Clorofila *b* (B); Clorofila total (C); e Carotenoides (D), nas folhas de Paricá, submetido a crescentes níveis de boro.

Os níveis de clorofila *b* (**Figura 2B**) divergiram estatisticamente nos tratamentos sob 100, 150 e 250  $\mu\text{M}$  B, sendo constatadas diminuições de 12,3, 16,2, 24,1%, respectivamente, em relação ao controle.

O decréscimo no conteúdo de CHL *b* pode ser resultado de alterações no estado funcional das membranas tilacóides dos cloroplastos, ocasionado pelos altos níveis de boro. Estresses abióticos, tal

como a toxicidade pode promover a desorganização dos tilacóides, afetando negativamente sobre a estrutura dos cloroplastos, e reduzindo a produção de pigmentos fotossintéticos, como a CHL *b* (PAPADAKIS, et al. 2004; WANG et al. 2011). Resultados semelhantes foram encontrados por Han et al. (2009) estudando *Citrus grandis* sob estresse de B em solução nutritiva, verificando diminuição no conteúdo de CHL *b*.

Os níveis de clorofila total apresentaram modificações significativas sob os níveis de 150 e 250  $\mu\text{M}$  B (**Figura 2C**), sendo observadas diminuições de 13,0 e 19,6%, respectivamente, quando comparados ao controle.

A redução nos níveis de clorofila total nas plantas sob o excesso de B ocorreu devido aos efeitos simultâneos relacionados às diminuições das quantidades de CHL *a* e *b*. Resultados semelhantes foram encontrados por Fávoro et al. (2010) avaliando o teor de clorofila em plantas de *Corymbia citriodora* expostas à toxicidade por B.

Os níveis de carotenoides (CAR) na planta (**Figura 2D**) quando submetidos a crescentes níveis de boro apresentaram alterações significativas nos tratamentos expostos a 50, 100, 150 e 250  $\mu\text{M}$  B, sendo verificado aumento de 110, 160, 350 e 210 %, respectivamente, em comparação ao controle.

O aumento na concentração de CAR induzido pela toxidez de boro sugere que estes pigmentos contribuem no mecanismo de proteção das clorofilas em plantas de *S. amazonicum*. Segundo Valladares et al. (2003), os carotenoides atuam na proteção do aparato fotossintético em condições estressantes, tal como a toxidez por boro. Resultados semelhantes foram obtidos por Seth e Aery (2014) estudando o efeito do boro em plantas de *Vigna radiata*.

## CONCLUSÃO

Os níveis de boro proporcionaram aumentos no conteúdo de aminoácidos solúveis totais, extravasamento de eletrólitos e prolina.

Houve diminuição das clorofilas, pelo efeito da toxidez.

Portanto, estes resultados revelam que plantas de Paricá sofrem interferências negativas pelo excesso de boro.

## REFERÊNCIAS

- APOSTOL, K. G.; ZWIAZEK, J. J. Boron and water uptake in jack pine (*Pinus banksiana*) seedlings. *Environmental and Experimental Botany* V. 51,145–153, 2004.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39:205-207, 1973.



- CERVILLA, L. M.; BLASCO, B.; RIOS, J. J.; ROSALES, M. A.; SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, E.; RUBIO-WILHELMI, M. M.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M.: Parameters symptomatic for boron toxicity in leaves of tomato plants. *J Bot* 2012:1-17, 2012.
- CERVILLA, L. M.; BLASCO, B.; RÍOS, J. J.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M.: Oxidative Stress and Antioxidants in Tomato (*Solanum lycopersicum*) Plants Subjected to Boron Toxicity. *Annals of Botany* 100: 747–756, 2007.
- CERVILLA, L. M.; BLASCO, B.; RÍOS, J. J.; ROSALES, M. A.; RUBIO-WILHELMI M. M.; RODRÍGUEZ, E. S.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M.: (2009) Response of nitrogen metabolism to boron toxicity in tomato plants. *Plant Biology*, Volume 11, Issue 5, pages 671–677.
- CONTRERAS, C.; MONTOYA, A.; PACHECO, P.; MARTINEZ-BALLESTA, M. C.; CARVAJAL, M.; BASTIAS, E.: (2011) The effects of the combination of salinity and excess boron on the water relations of tolerant tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Poncho Negro, in relation to aquaporin functionality. *Span J Agric Res* 9:494-503.
- FÁVARO, E. A.; VITORINO, A. C. T.; DANIEL, O.; NOVELINO, J. O.: Boron and magnesium on *Corymbia citriodora* production and chlorophyll content. *Floresta* 41:39-46, 2011.
- GONDIM, A. R. O. Absorção e mobilidade do boro em plantas de tomate e de beterraba. 2009.14 f. Tese (Doutorado em Agronomia-Produção Vegetal) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, São Paulo, 2009.
- GONG, M. L. I. Y. J.; CHEN, S. Z.: Abscisic acid-induced thermotolerance in maize seedlings is mediated by calcium and associated with antioxidant systems. *J Plant Physiol* 153:488-496, 1998.
- HAN, S.; TANG, N.; JIANG, H.; YANG, L.; LI, Y.; CHEN, L.: CO<sub>2</sub> assimilation, photosystem II photochemistry, carbohydrate metabolism and antioxidant system of citrus leaves in response to boron stress. *Plant Sci* 176:143-153, 2009.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I.: The water culture method of growing plants without soil. *California, Agriculture Experiment Station*.1950, p. 34.
- HONG, Z.; LAKKINENI, K.; ZHANG, Z.; VERMA, D. P. S.: Removal of Feedback Inhibition of D1-Pyrroline-5-Carboxylate Synthetase Results in Increased Proline Accumulation and Protection of Plants from Osmotic Stress. *Plant Physiology*, April 2000, Vol. 122, pp. 1129–1136.
- JAMBUNATHAN, N.: Determination and Detection of Reactive Oxygen Species (ROS), Lipid Peroxidation, and Electrolyte Leakage in Plants. *Plant Stress Tolerance Methods in Molecular Biology*, Volume 639, 2010, pp 291-297.
- KENT, G. A.; JANUSZ, J. Z.: Boron and water uptake in jack pine (*Pinus banksiana*) seedlings. *Environ Exp Bot* 51:145-153, 2004.
- LICHTENTHALER, H. BUSCHMANN, C.: Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS Spectroscopy. *Curr Protoc Food Anal Chem*: F.4.3.1-F.4.3.8, 2001.
- PAPADAKIS, I. E.; DIMASSI, K. N.; BOSABALIDIS, A. M.; THERIOS, I. N.; PATAKAS, A.; GIANNAKOULA, A.: Boron toxicity in 'Clementine' mandarin plants grafted on two rootstocks. *Plant Sci* 166:539-547, 2004.
- PAULA, M. T.; FILHO, B. G. S.; CORDEIRO, Y. E. M.; CONDE, R. A.; NEVES, P. A. P. F. G.: Ecofisiologia do Mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla* King) em sistemas agroflorestais no município de Santa Bárbara-Pa. *ENCICLOPÉDIA BIOSFERA*, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, N.16; p. 813, 2013.
- PEOPLES, M. B.; FAIZAH, A. W.; REAKASEM, B. E.; HERRIDGE, D. F.: Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field. *Canberra*. p. 76. 1989.
- ROSA, L. S.: Características botânicas, anatômicas e tecnológicas do Paricá (*Schizolobium amazonicum* Huberr ex Ducke). *Rev. Ciênc. Agrár. Belém*, n.46, p.63 –79, 2006.
- SAS INSTITUTE INC. SAS/STAT. User's Guide, release 6.11.ed. Cary: 1996.
- SOUZA, R. R.; PAIVA, P. D. O.; CARVALHO, J. G.; ALMEIDA, E. F. A.; BARBOSA, J. C. V.: Doses de boro no desenvolvimento de copo-de-leite em solução nutritiva. *Ciênc. agrotec, Lavras*, v. 34, n. 6, p. 1396-1403, 2010.
- SETH, K.; AERY, N. C.: Effect of boron on the contents of chlorophyll, carotenoid, phenol and soluble leaf protein in mung bean, *Vigna radiata* (L.) Wilczek. *Proc Natl Acad Sci India Sect B Biol Sci* 84:713-719, 2014.
- STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M.W, HECKTHEUER, L.H.H.: The chlorophylls. *Cienc Rural* 35:748-755, 2005.
- VALLADARES, F.; HERNÁNDEZ, L. G.; DOBARRO, I. GARCÍA-PÉREZ, C.; SANZ, R.; PUGNAIRE, F. I.: The ratio of leaf to total photosynthetic area influences shade survival and plastic response to light of green-stemmed leguminous shrub seedlings. *Ann Bot* 91: 577-584, 2003.
- WANG, J. Z.; TAO, S. T.; QI, K. J.; WU, J.; WU, H. Q.; ZHANG, G. S. L.: Changes in photosynthetic properties and antioxidative system of pear leaves to boron toxicity. *Afr J Biotechnol* 10:19693-19700, 2011.