

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**ABSORÇÃO E TRANSLOCAÇÃO
DE BORO EM CAFEIEIRO**

VAGNER MAXIMINO LEITE

Tese apresentada á Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia - Área de Concentração em Agricultura.

BOTUCATU - SP
Abril – 2002

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**ABSORÇÃO E TRANSLOCAÇÃO
DE BORO EM CAFEIEIRO**

VAGNER MAXIMINO LEITE

Orientador: CIRO ANTONIO ROSOLEM

Tese apresentada á Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia - Área de Concentração em Agricultura.

BOTUCATU - SP
Abril - 2002

“No amount of experimentation
can ever prove me right; a single
experiment can prove me
wrong.”

Albert Einstein

“Hipótese é uma coisa que não é,
mas a gente faz de conta que é para
ver como seria se ela fosse.”

Albert Einstein

Por esta obra homenageio a Deus e todos os seus anjos que sempre estiveram comigo em todos os momentos felizes e de dificuldades!

Dedico a OSVALDO E SILVIA por ser o que sou hoje!!!

Ofereço à minha esposa, **Renata**, pela paciência, amor, carinho e companheirismo, sendo meu porto seguro nas horas mais difíceis!

AGRADECIMENTOS

Tentei lembrar de todos que me ajudaram de uma forma ou de outra, seja pela companhia, amizade ou mesmo profissionalmente, porém faltaria espaço para todos, portanto gostaria que todos soubessem que foram muito importantes para mim. Dentre as pessoas que me lembro, agradeço

- minhas irmãs, cunhados e sobrinhos por estarem sempre ao meu lado, me apoiando com a confiança que depositaram em mim, dando-me “assistência” técnica no computador ou mesmo por se fazerem presente;

- a família Ferreira de Lima que me recebeu muito bem e da qual hoje tenho o prazer de fazer parte;

- ao Prof. Dr. Ciro Antonio Rosolem pela orientação e mais ainda pela amizade que o tempo afirmou, me ajudando a aproveitar as oportunidades que surgiram e culminaram neste trabalho;

- aos amigos da pós-graduação Celso, Rosa, Celso, Rosa, Rose, Esteves, Salvador, Munir, Adriana, Rita e todos outros, aos estagiários Ricardo, Marcelo, Juliana, Caju, Mardita, Costelinha, Juliano e Mariló : “É dito que se leva um minuto para encontrar uma pessoa especial, 1 hora para apreciá-la, mas uma vida inteira para esquecê-la...” Só queria dizer que uma vida realmente é pouco para esquecer todos vocês. Muito obrigado!!!!

- aos professores do Departamento de Produção Vegetal pelas conversas, sugestões e discussões seja mediante a este trabalho ou outros desenvolvidos;

- aos funcionários Dorival, Célio, Verinha, Lana, Milton, Célio, Toninho, “Fio”, Cidão, Milton, Galé, Magrão e todos os demais que, com toda certeza, foram, cruciais para o desenvolvimento deste trabalho e para o próprio departamento;
- aos funcionários da biblioteca e da seção de Pós-Graduação por toda a assistência;
- as pessoas que tornaram minha estada em Davis mais fácil, Monika, Elias, João Saad, Rosemary e Mauro;
- ao prof. Dr. Patrick Brown pela oportunidade de conhecer um pouco mais do mundo;
- aos Drs. Hening Hu e Nacer Belalloui por me ajudarem na discussão de alguns dados e por se colocarem sempre à disposição para me ensinar um pouco mais sobre Nutrição e B;
- ao Dr. Andy Ungerer da Universidade do Oregon que me auxiliou tanto nas análises quanto em minha estada em Corvallis;
- ao College of Oceanic and Atmospheric Sciences, na pessoa do Dr. W.M. Keck pela colaboração para a espectrometria de massa;
- aos amigos que direta ou indiretamente estiveram ao meu lado nestes anos: Arnold, Neide, Cida Avelar, Cida Benini, Eliana, Miguel, Andréa, Viviane, Odiva, Nei, Bia, Izolda e tantos que me proporcionaram uma ótima estada em Botucatu;
- a FAPESP pelo apoio financeiro que foi imprescindível para o desenvolvimento deste trabalho e que continue apoiando o desenvolvimento científico-tecnológico do Estado de São Paulo.

“Triste época esta... Mais fácil desintegrar um átomo do que um preconceito!”

Albert Einstein

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE QUADROS	VIII
LISTA DE FIGURAS	XI
RESUMO.....	1
SUMMARY.....	3
1. INTRODUÇÃO.....	5
2. REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1. Abundância e funções do B.....	7
2.2. Absorção e translocação de B.....	10
2.3. Boro em cafeeiro	18
2.4. Uso de isótopo em cafeeiro	22
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1. Procedimentos comuns a mais de um experimento.....	23
3.2. Experimento 1: Alterações morfológicas e produção	25
3.3. Experimento 2: Boro enriquecido	28
3.4. Experimento 3: Pincelamento de ácido bórico enriquecido	32
3.5. Experimento 4. Fracionamento Celular.....	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
4.1. Experimento 1 : Alterações morfológicas e produção	37
4.2. Experimento 2. Boro enriquecido.....	48
4.3. Experimento 3. Pincelamento de ácido bórico enriquecido	71
4.4. Experimento 4. Fracionamento Celular.....	76
5. CONCLUSÕES	85
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
APÊNDICE 1	94
APÊNDICE 2	96

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 1 - Descrição dos tratamentos para aplicação via foliar de B em cafeeiro, em duas épocas (pré-florada e chumbinho) com três doses e uma testemunha.	26
Quadro 2 - Receitas utilizadas no experimento com cafeeiro cultivado em areia lavada sob casa-de-vegetação, demonstrando a quantidade de macronutrientes (g) e micronutrientes (mg) e a concentração final em ppm.	29
Quadro 3 - Descrição dos tratamentos a serem realizados com diferentes aplicações de B em café. Experimento 2.	30
Quadro 4 - Quadro de análise de variância dos resultados para a análise da coleta “prévia”, raiz e frutos de cafeeiro, em casa-de-vegetação, sob diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico.	31
Quadro 5 - Quadro de análise de variância dos resultados para as variáveis relativas a concentração de B nas folhas e nos ramos de cafeeiro, em casa-de-vegetação, sob diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico.	32
Quadro 6 – Resultados das colheitas finais, realizadas nas safras 1998/1999 e 1999/2000, de frutos de café beneficiado, teor e quantidade de B contida nos frutos e na palha de café em experimento com B em diferentes doses e épocas de aplicação. Médias de 3 plantas com 6 repetições, colhidas sobre peneira.	42
Quadro 7 - Comprimento dos ramos, número de nós e número de folhas de plantas de café submetidas a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Amostragem realizada no primeiro ramo emitido na época E2, 140 dias após a instalação dos tratamentos em E3.	49
Quadro 8 - Relações entre o número de folhas e o número de nós, massa de material seco das folhas e o número de nós e massa de material seco das folhas de cafeeiro submetidas a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Amostragem realizada no primeiro ramo emitido na época E2, 140 dias após a instalação dos tratamentos em E3.	51

Quadro 9 - Massa de material seco das folhas por ramo, massa de material seco dos ramos e massa de material seco total dos ramos de cafeeiro submetidos a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Amostragem realizada no primeiro ramo surgido na época E2, 140 dias após a instalação dos tratamentos em E3.	52
Quadro 10 - Teores de B (mg kg^{-1}) nas folhas e nos ramos e de cafeeiro submetidos a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Amostragem realizada no primeiro ramo surgido na época E2, 140 dias após a instalação dos tratamentos em E3.	54
Quadro 11 - Quantidades de B nas folhas, nos ramos e total por época em cafeeiro submetido a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Amostragem realizada no primeiro ramo surgido na época E2, 140 dias após a instalação dos tratamentos em E3.	56
Quadro 12 - Bpff (%) (Quantidade de ^{10}B proveniente do fertilizante) nas folhas e ramos de cafeeiro submetidos a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Amostragem realizada no primeiro ramo surgido na época E2, 140 dias após a instalação dos tratamentos em E3.	57
Quadro 13 - Massa de material seco nas folhas e nos ramos de cafeeiro submetidos a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Avaliação final realizada aos 250 dias após início dos tratamentos.	60
Quadro 14 - Massa de material seco (g) da parte aérea, dos frutos, das raízes e do total de cafeeiro submetido a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Avaliação final realizada aos 250 dias após início dos tratamentos.	62
Quadro 15 - Teores de B e quantidades de B (g) nas folhas de cafeeiro submetido a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Avaliação final realizada aos 250 dias após início dos tratamentos.	65
Quadro 16 - Teores de B e quantidades de B (g) nos ramos de cafeeiro submetidos a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico.	66
Quadro 17 - Quantidades de ^{10}B proveniente do fertilizante (Bdff - %) nas folhas e nos ramos de cafeeiro submetidos a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Avaliação final realizada aos 250 dias após início dos tratamentos.	67

Quadro 18 - Teores, quantidades de B e quantidades de ^{10}B proveniente do fertilizante (Bdff - %) nos frutos e raízes de cafeeiro submetido a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Avaliação final realizada aos 250 dias após início dos tratamentos.	70
---	----

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Representação esquemática dos tratamentos e épocas de aplicação de solução nutritiva em experimento de cafeeiro sob casa-de-vegetação.	30
Figura 2. Massa de material seco das folhas por nó em ramos de plantas de café no campo sob diferentes doses e épocas de aplicação de ácido bórico via foliar. Avaliações referentes ao primeiro ano do experimento, sendo as épocas de coleta realizadas 30 e 90 dias após as aplicações foliares de B.	38
Figura 3. Massa de material seco de folhas por nó em ramos de plantas de café no campo sob diferentes doses e épocas de aplicação de ácido bórico via foliar. Avaliações referentes ao segundo ano de experimento, sendo as épocas de coletas realizadas 30 e 90 dias após as aplicações foliares de B, e a última após 120 dias.	39
Figura 4. Massa de material seco de frutos em ramos de plantas de café no campo sob diferentes doses e épocas de aplicação de ácido bórico via foliar. Avaliações referentes ao segundo ano de experimento, sendo as épocas de coleta realizadas 30 e 90 dias após as aplicações foliares de B.	40
Figura 5. Massa de material seco de frutos em ramos de plantas de café no campo sob diferentes doses e épocas de aplicação de ácido bórico via foliar no segundo ano de condução do experimento. Avaliações referentes ao segundo ano de experimento, sendo as épocas de coleta realizadas 30 e 90 dias após as aplicações foliares de B, e a última após 120 dias.	40
Figura 6. Teores foliares de B em ramos que foram divididos em 3 partes, em coleta realizada 30 dias após a aplicação foliar de doses de ácido bórico em pré-florada (setembro/98), comparando-se com análise prévia realizada imediatamente antes da aplicação, coletando-se folhas do terceiro nó de ramos do terço mediano da planta (Malavolta, 1986).	43
Figura 7. Teores foliares de B em ramos que foram divididos em 3 partes, em coleta realizada 90 dias após a aplicação foliar de doses de ácido bórico em pré e/ou pós-florada (fevereiro/99).....	43

Figura 8. Teores de B na haste de ramos que foram divididos em 3 partes, em coleta realizada 30 dias após a aplicação foliar de doses de ácido bórico em pré-florada (setembro/98).....	44
Figura 9. Teores de B na haste de ramos que foram divididos em 3 partes, em coleta realizada 90 dias após a segunda aplicação foliar de doses de ácido bórico em pré e/ou pós-florada (fevereiro/99).....	45
Figura 10. Teores de B nos frutos de ramos que foram divididos em 3 partes, em coleta realizada 30 dias após a aplicação foliar de doses de ácido bórico em pré-florada (setembro/98).....	46
Figura 11. Teores de B nos frutos de ramos que foram divididos em 3 partes, em coleta realizada 90 dias após a aplicação foliar de doses de ácido bórico em pré e/ou pós-florada (fevereiro/99).....	46
Figura 12. Número de estruturas reprodutivas (flores ou frutos) de plantas de café em segundo ano de produção (safra de baixa produção), tratadas ou não com uma única aplicação de B foliar em pré-florada.	47
Figura 13. Sintomas de deficiência de B apresentados por plantas de café sob diferentes épocas de suprimento de B.	48
Figura 14. Teor de B nas folhas de cafeeiro pinceladas com solução de 500 mg L ⁻¹ de ácido bórico enriquecido com 34,27% de ¹⁰ B. Aplicação realizada em setembro de 1998.	72
Figura 15. Teores de B nos ramos de cafeeiro com folhas pinceladas com solução de 500 mg L ⁻¹ de ácido bórico enriquecido com 34,27% de ¹⁰ B. Aplicação realizada em setembro de 1998.....	73
Figura 16. Teores de B nos frutos de cafeeiro com folhas pinceladas com solução de 500 mg L ⁻¹ de ácido bórico enriquecido com 34,27% de ¹⁰ B. Aplicação realizada em setembro de 1998.....	73
Figura 17. Recuperação isotópica do B nas folhas de cafeeiro com folhas pinceladas com solução de 500 mg L ⁻¹ de ácido bórico enriquecido com 34,27% de ¹⁰ B. Aplicação realizada em setembro de 1998.	74

- Figura 18. Recuperação isotópica de B em hastes de ramos de cafeeiro com folhas pinceladas com solução de 500 mg L^{-1} de ácido bórico enriquecido com 34,27% de ^{10}B . Aplicação realizada em setembro de 1998.....75
- Figura 19. Recuperação isotópica de B nos frutos de cafeeiro com folhas pinceladas com solução de 500 mg L^{-1} de ácido bórico enriquecido com 34,27% de ^{10}B . Aplicação realizada em setembro de 1998.76
- Figura 20. Resultados da análise de parede celular de folhas de cafeeiro cultivar Catuaí sob diferentes doses de B quanto a teores de Ca e B, e a relação Ca/B.77
- Figura 21. Resultados da análise de parede celular de folhas de cafeeiro cultivar Mundo Novo sob diferentes doses de B quanto a teores de Ca e B, e a relação Ca/B.77
- Figura 22. Microscopia eletrônica de varredura de feixe vascular de haste de cafeeiro, em suficiência (A) e deficiência (B) de B. Notar a descontinuidade dos vasos de xilema e de floema nas plantas deficientes, em relação ao observado nas plantas em suficiência de B.80
- Figura 23. Microscopia eletrônica de varredura da nervura central de folhas de cafeeiro, em suficiência (A) e deficiência (B) de B. Notar o desarranjo dos vasos de xilema e espessura menor em plantas deficientes, em relação ao observado em plantas em suficiência de B.81
- Figura 24. Microscopia eletrônica de varredura da nervura secundária de folha de cafeeiro, em suficiência (A) e deficiência (B) de B. Notar o desarranjo dos vasos de xilema em plantas em deficiência de B.82
- Figura 25. Microscopia eletrônica de células do parênquima de folhas de cafeeiro submetidas à deficiência de B. Notar a superfície irregular da parede das células.....83
- Figura 26. Microscopia eletrônica de varredura da superfície abaxial de folha de plantas de cafeeiro, em suficiência (A) e deficiência (B) de B. Notar a diferença entre a quantidade e o formato dos estômatos nas diferentes regiões da mesma folha.....84

ABSORÇÃO E TRANSLOCAÇÃO DE BORO EM CAFEIEIRO. Botucatu, 2002. 105p.

Tese (Doutorado em Agronomia/Agricultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas,
Universidade Estadual Paulista.

Autor: VAGNER MAXIMINO LEITE

Orientador : Ciro Antonio Rosolem

RESUMO

Existe controvérsia sobre o modo de aplicação de B em cafeeiro, teor foliar e produtividade, que pode estar relacionada tanto com a absorção quanto com a translocação do nutriente em função do modo de aplicação e do cultivar utilizados. Com o intuito de avaliar a absorção, a translocação e alguns efeitos morfológicos e anatômicos do B sobre o cafeeiro, foram realizados 2 experimentos em campo e 2 em casa-de-vegetação, utilizando-se o isótopo estável ^{10}B , medições e microscopia eletrônica de varredura. No primeiro experimento em campo, que teve a duração de 2 anos, o ácido bórico foi aplicado em diferentes doses, em pré e/ou pós-florada. Para as avaliações, os ramos foram coletados e divididos em 3 partes, sendo analisados quanto ao teor de B nas folhas, haste e estruturas reprodutivas, o número de nós, o número de folhas, o comprimento ramo e a matéria seca das folhas e dos frutos. Não houve diferenças significativas entre tratamentos para o conteúdo de B nas diferentes partes analisadas, e não foram observados alterações morfológicas ou efeito na produtividade do cafeeiro nos 2 anos. O pincelamento de ácido bórico enriquecido ($\text{H}_3^{10}\text{BO}_3$) nas folhas, constou do segundo experimento em campo, onde se observou a dependência das chuvas, para que ocorresse a translocação do B aplicado nas folhas para a haste, folhas do ponteiro e frutos. Do B contido nas folhas do ponteiro 30 dias após a

aplicação e no fruto durante todo o período avaliado, 5% foi translocado do fertilizante pincelado. Os experimentos quanto ao modo de aplicação, foliar ou radicular, a translocação e as alterações anatômicas em suficiência ou deficiência de B foram realizados em casa-de-vegetação. As plantas cresceram em vasos com areia lavada recebendo solução nutritiva completa, menos B, o qual foi aplicado separadamente ou via foliar ou via substrato. As alterações morfológicas foram semelhantes às encontradas no experimento de campo, apresentando correlação entre teor de B e produtividade. O uso de ^{10}B permitiu observar o transporte via corrente de transpiração do nutriente aplicado no substrato e a translocação foi provada ao se encontrar isótopo marcado aplicado via foliar, na raiz das plantas. A deficiência de B implicou em vasos de xilema mais finos e menos resistentes, tortuosidade nos vasos do feixe vascular, superfície irregular da parede celular de células do parênquima de folhas e menor número e formato anormal de estômatos. Concluiu-se que houve translocação do B aplicado, seja via foliar ou substrato, e que em campo, esta translocação é dependente das chuvas; a deficiência de B implicou em alterações anatômicas nos feixes vasculares e que estas anormalidades podem ser as responsáveis pelas mudanças morfológicas relacionadas à deficiência de B.

BORON ABSORPTION AND TRANSLOCATION IN COFFEE PLANTS. Botucatu, 2002. 105p. Tese (Doutorado em Agronomia/Agricultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: VAGNER MAXIMINO LEITE

Adviser : Ciro Antonio Rosolem

SUMMARY

There is a controversy about B application way, foliar content and yields that can be related to the nutrient absorption and translocation as affected by application way and the cultivars. To evaluate B translocation and some morphological and anatomical effects on coffee plants, two experiments were conducted in field conditions and two in green house, using ^{10}B , some morphological measurements and scanning electronic microscopy. In the first field experiment, conducted for 2 years, boric acid was applied in several concentrations pre and/or post-flowering. Branches were collected and split in 3 parts, and B content in leaves, stem and reproductive structures were analyzed, nodes number, leaves number, branch length and dry matter weight of leaves and fruits. No significant difference was found between treatments as regarding B content in the several plant parts, and there was no morphological changes or B effect on coffee yields in the 2 years. Brushing of the enriched boric acid on the leaves was the second field experiment, where it was observed a rain-dependency on leaf applied B translocation to stem, new leaves and fruits. Of the B found in the new leaves 30 days after application and in fruits during all the evaluations 5% was translocated from that applied to leaves. In green house the foliar and root absorption and translocation were studied, as well as the anatomical abnormalities. Plants were grown in pots

with washed sand, receiving a complete nutrient solution less B, that was sprayed to leaves or supplied to the substrate. The morphological effects were similar to those in field experiments, and B content in the leaves showed positive correlation with coffee yields. Transpiratory stream was the main driving force ^{10}B use in B translocation. The ^{10}B was found in roots of plants receiving B foliar only. The leaves of plants grown in B-deficient substrate showed thinner xylem's cell wall, that were less resistant the parenchyma cell wall surface, was irregular and less stomata number and abnormal format were found in deficient leaves. The conclusion is there is a little B translocation in coffee plants, that is rain-dependent in the field. B-deficiency causes anatomical abnormalities that can be the responsible by morphological changes.

1. INTRODUÇÃO

As pequenas quantidades de micronutrientes exigidas pelas plantas permitem que as necessidades das culturas sejam satisfeitas através da adubação foliar. Contudo, a baixa mobilidade de alguns elementos, especialmente do boro (B), faz com que sejam necessárias várias aplicações. Diferentemente da aplicação no solo, com a adubação foliar consegue-se aplicação mais uniforme, e respostas mais rápidas, sendo possível corrigir eventuais deficiências ainda dentro do ciclo da cultura (Volkweiss, 1991).

No caso do cafeeiro, existe controvérsia quanto ao melhor modo de aplicação de B. Algumas vezes conseguem-se respostas positivas com aplicação foliar, em outras a aplicação via solo é melhor. Além disso, nem sempre o incremento no teor foliar significa incremento na produtividade (Santinato et al., 1991; Marubayashi et al., 1994; Lima Filho & Malavolta, 1992; Barros et al., 1996).

A literatura sobre B em cafeeiro é relativamente farta, como poderá ser observado no item 2.3, porém muitos aspectos ainda são pouco conhecidos, tais como o real

grau de translocação do nutriente na planta e seus efeitos sobre a morfologia celular e sistema vascular.

O B era conceituado como nutriente imóvel na planta. Embora houvesse pouca discussão a respeito da imobilidade, ou limitada mobilidade do B no floema de plantas superiores, Brown & Hu (1996) obtiveram resultados contrários a este conceito clássico, confirmando seus resultados posteriormente, encontrando mobilidade de B em certos tecidos de algumas espécies vegetais (Brown & Shelp, 1997).

Segundo Brown & Shelp (1997), o B movimenta-se na forma de complexos com polióis (açúcar-álcool), sendo que em alho, aipo, aspargo, couve-flor, cenoura, oliveira, feijão, ervilha e mesmo no café, o manitol é encontrado em maior quantidade, porém as informações sobre a distribuição destes polióis em plantas superiores ainda são insuficientes.

Assim, o conhecimento mais aprofundado da absorção e translocação do B em plantas de café, bem como sua relação com o pegamento de flores e retenção de frutos pode contribuir para o desenvolvimento de um programa de adubação boratada mais racional.

O presente trabalho de pesquisa objetivou verificar a mobilidade do nutriente B em cafeeiro, visando avaliar a sua transferência bem como sua influência na produção dos frutos e nas mudanças morfológicas e anatômicas das folhas e ramos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Abundância e funções do B

Os isótopos estáveis de B são de massa 10 e 11, com abundância natural de $^{10}\text{B}=19,9\%$ e $^{11}\text{B}=80,1\%$ (De Bievre & Barnes, 1985), implicando em peso atômico de 10,81. Encontra-se, na literatura, outros valores para a abundância natural de ^{10}B , tais como o citado por Brown et al. (1992) de $19,83\pm 0,02\%$, Hanson (1991) de $19,8\%$ e Power & Woods (1997) de 20% , sendo que estes últimos citam que há diferença significativa na relação isotópica dos minerais de B das duas maiores fontes (USA e Turquia), o que talvez possa explicar esta variação de resultados.

Vanderpool & Johnson (1992) relataram que, além da variação na relação geoquímica de isótopos $^{11}\text{B}/^{10}\text{B}$, também encontraram variação na relação isotópica entre espécies, e Marentes et al. (1997) demonstram que há, na planta, um fracionamento da relação isotópica na parte aérea, tendo o xilema uma relação maior que as folhas e similar às secções de caule correspondentes. A relação entre inflorescências e floema foi semelhante.

Apesar de sua baixa abundância, o B está amplamente distribuído tanto na litosfera quanto na hidrosfera. Naturalmente o B é encontrado quase que exclusivamente ligado ao oxigênio como borato, menos em forma de ácido bórico ou, mais raro ainda, ao flúor, como íon BF_4^- . Normalmente somente o B solúvel está disponível às plantas, e este geralmente corresponde a 10% do B total no solo, lembrando que a maior parte dos solos tem baixo conteúdo de B, sendo encontrados altos níveis em solos associados com vulcanismo recente (Power & Woods, 1997).

Loomis & Durst (1992) fazem uma revisão sobre as primeiras citações de exigência de B em plantas vasculares, dando o mérito do primeiro trabalho sobre a essencialidade de B para Katherine Warington em 1923. Somente em 1980 foi teorizada a sua essencialidade, que seria devida a evolução das plantas vasculares, tendo o B um papel primário na biossíntese de lignina (Power & Woods, 1997). Dentro do reino vegetal, embora o B seja importante na nutrição de plantas, sua exigência difere grandemente, sendo essencial para o desenvolvimento de mono e dicotiledôneas, coníferas, diferentes espécies de diatons, mas não para fungos e muitas algas (Shelp, 1993).

Embora sejam relatados numerosos efeitos de B, nenhuma evidência foi apresentada de que o B seja um constituinte de enzima ou que tenha papel direto na atividade enzimática ou mesmo se estes efeitos descritos na literatura são efeitos diretos ou indiretos (Cakmak & Römheld, 1997).

A deficiência de B causa diversos desarranjos fisiológicos, tais como transporte de açúcares, síntese de parede celular, lignificação, estrutura da parede celular, metabolismo de carboidratos, metabolismo de RNA, respiração, metabolismo de IAA, metabolismo de fenóis e integridade de membrana (Parr & Loughman, 1983). É amplamente

aceito que as mudanças morfológicas e fisiológicas causadas pela deficiência de B estão mais provavelmente relacionadas à formação de complexos entre B e compostos polióis semelhantes à pectina em parede celular, glicoproteínas ou glicolipídios em membranas e 0-difenóis (Cakmak & Römheld, 1997).

Álcoois polihidroxis, ou polióis, são provavelmente encontrados em todas as espécies vegetais, mas somente em poucas famílias estes compostos são sintetizados a partir do C fotossinteticamente fixado. Os polióis manitol, sorbitol e dulcitol são polióis equivalentes das hexoses manose, frutose e galactose, respectivamente (Madore, 1994). O tipo de complexo formado depende da relação Borato e Diol e do pH, sendo o tipo BD formado preferencialmente em alta abundância de borato, e BD2 em baixa (Shelp, 1993). Diferentes compostos são conhecidos por terem configuração semelhante a *cis*-diol requerida para a formação de complexos boratados estáveis. Os principais compostos de interesse biológico são os o-difenóis (ácido caféico e hidroxiferúlico) e açúcares (por exemplo ribose, apiose, açúcares redutores, com exceção da sacarose, e açúcares álcoois) (Cakmak & Römheld, 1997; Shelp, 1993).

A ligação de B a blocos de ácido caféico leva à formação de quinonas e, então, facilitam a síntese de álcoois fenólicos os quais são precursores da biosíntese de lignina. O aumento na concentração de fenóis em tecidos deficientes em B pode ser resultado da restrição na biosíntese de álcoois fenólicos (Pilbean & Kirkby, 1983)

Kobayashi & Matoh (1997) propuseram que a determinação da localização de B na célula parece ser um pré-requisito para a identificação das suas funções, porém esses lugares onde se encontra o ácido bórico pode ser meramente uma consequência de sua ligação di-ester com grupos *cis*-diol de açúcares e fenóis. A maior parte do B solúvel

ocorre no apoplasto, exceto em condições de toxidez, porém isto não exclui um possível envolvimento de B em reações metabólicas no simplasto e uma possibilidade de transporte via floema em algumas espécies (Matoh, 1997).

Cerca de 95 a 98% do B total estão ligados à parede celular, em condições limitantes de disponibilidade de B, deixando somente uma pequena fração que possivelmente pode estar envolvida em outras funções da planta (Matoh et al., 1992). Em células de tabaco (*Nicotiana tabacum*), Hu & Brown (1994) descrevem que o B encontrado na parede celular correspondeu à cerca de 97% e 64% do B celular total, sob condições de deficiência e suficiência respectivamente. Porém, segundo Parr & Loughman (1983), as frações de B na parede não são a razão para a essencialidade de B, embora outros autores, especialmente Brown e seus colaboradores, em seus artigos, tenham citado que a principal, senão a única, função do B na planta seja a estrutural, ligando compostos da parede celular.

O isolamento e a purificação de um complexo particular de B com um polissacarídeo foi realizada por Matoh et al. (1993), em parede celular de rabanete, abrangendo cerca de 80% do B da parede, sugerindo que o B não se liga ao acaso a polissacarídeos na parede celular. Este polissacarídeo trata-se da Rhamnogalacturona II (RGII), que é um componente de polímero de cadeia longa, e o B pode conectar duas cadeias de pectina, ligando-as nas respectivas RGII de cada uma, lembrando que este complexo pode estar presente em todas as plantas superiores (Matoh et al., 1996).

2.2. Absorção e translocação de B

Redistribuição é o processo de translocação secundário de minerais para fora do lugar de deposição, para onde eles foram carregados pelo movimento de água ao longo do xilema. A distribuição primária ocorre principalmente através do xilema, enquanto o processo secundário de redistribuição está ligado ao transporte de produtos assimilados através do floema (Van Goor & Van Lune, 1980).

Segundo Brown & Hu (1993) a absorção de B é um processo não metabólico e é controlado pela formação de complexos de B não trocáveis no citoplasma e parede celular. A hipótese de absorção passiva de B é suportada pela difusão do ácido bórico sem carga através da bicamada lipídica da membrana, com a permeabilidade da membrana sendo principalmente determinada pelo caráter lipofílico do ácido bórico (Dordas & Brown, 2000). Xie et al. (1992) relatam que absorção de B do solo por raízes é mais rápida do que a absorção e translocação de B aplicado via foliar em plantas de algodão.

Outros mecanismos de transporte transmembrana podem estar envolvidos na absorção de B, o que poderia explicar a ocorrência de vários passos do fracionamento de isótopos de B encontrado por Marentes (1997), pela diferente discriminação entre isótopos para o transporte transmembrana. Este transporte pode ocorrer pela entrada facilitada do ácido bórico através de canais iônicos e, em baixo suprimento de B, através de transportadores dependentes de energia (Dordas & Brown, 2000).

Garate et al. (1984), cultivado tomates hidroponicamente com três níveis de B, encontraram resultados indicando que a absorção e translocação de B não são passivas. Os autores observaram também a ocorrência de absorção ativa de B em meio deficiente e exclusão em meio tóxico em B.

Resultados encontrados por Hu et al. (1996) sugerem que o B exigido pelos tecidos de uma espécie em particular está profundamente relacionado com o conteúdo de pectina da célula, enquanto que a exigência de B para a planta inteira pode ser determinada por muitos fatores adicionais, tais como a taxa de absorção de B do solo, translocação do B da raiz para a parte aérea, distribuição do B entre e dentro dos órgãos e a extensão da mobilidade do B no floema, que contribuirão para a diversidade no requerimento de B de uma espécie em particular ou mesmo cultivar.

Xie et al. (1992) observaram que, durante o crescimento vegetativo, o B foi transportado principalmente para pontos de crescimento e folhas jovens, enquanto que durante o crescimento reprodutivo, o nutriente foi transportado principalmente para folhas no caule principal e para folhas acompanhadas de órgãos reprodutivos. O B não foi facilmente remobilizado de folhas velhas, mas pode ser translocado de folhas fotossinteticamente ativas.

A maior parte do B na planta está na forma não trocável e não pode ser retirada, provavelmente por estar fortemente complexado na fração péctica da parede celular (Brown & Hu, 1994; Matsunaga & Nagata, 1995; Hu et al., 1996).

Oertli (1994) afirma que o boro não está distribuído homogeneamente nas plantas, mas acumulado em áreas marginais, topos de folhas e entre nervuras, sendo translocado com a corrente de transpiração. A concentração de B dentro da mesma folha pode variar em 100 vezes e a análise foliar, então, representa somente um valor médio. O conteúdo também aumenta com a idade da planta, e em casos extremos, o B pode atingir níveis tóxicos em folhas velhas e estar deficiente em pontos de crescimento na mesma planta. A taxa de transpiração afeta grandemente o transporte de B dentro das folhas e sua distribuição.

Picchioni et al. (1995) trabalharam com maçã, pêra, ameixa e cereja doce, e observaram que a absorção foliar de B marcado em folhas foi de 85-96%, 24 horas após a aplicação. Mais de 50% do B retido na superfície da folha, após a aplicação, foi absorvido e exportado depois de 6 horas da aplicação. Diferenças nas características da superfície da folha entre as espécies testadas influenciaram grandemente a quantidade de solução retida por unidade de área foliar. A capacidade de retenção foliar foi a determinante primária da quantidade de B absorvido pelas folhas após a aplicação foliar. Depois de extensiva documentação da imobilidade do B acumulado nas folhas naturalmente (do solo, por exemplo), o B acumulado pelas folhas, após aplicação foliar, foi altamente móvel nas 4 espécies testadas.

Outra importante propriedade do ácido bórico é a habilidade de formar complexos *cis*-diol com uma variedade de moléculas orgânicas. Por exemplo, em *Apium graveolens*, o B presente na célula e em exsudado de floema ocorre quase que totalmente como complexo B-manitol, não sendo encontrado ácido bórico livre. A formação de complexos borato-diol tem um pK_a muito menor do que o do borato, ao redor de 5,2, o que é 4 unidades menor do que do ácido bórico livre, que é de 9,25, sugerindo que, em condições normais de suprimento de B, a concentração de ácido bórico livre dentro do citoplasma se aproximaria de zero (Hu & Brown, 1997).

Hu et al. (1997) relataram que o B está presente como complexo manitol-B-manitol na seiva do floema de plantas de aipo não tratadas. No néctar extrafloral de pêsego, o B está presente como sorbitol-B-sorbitol, frutose-B-frutose, ou sorbitol-B-frutose. Este descobrimento representou o primeiro sucesso no isolamento e caracterização de

complexos de B solúveis de plantas superiores, e providenciou uma explicação mecanística para a mobilidade do B observada no floema destas espécies.

Brown & Hu (1996), estudando 6 espécies de árvores em campo, com folhas tratadas com ^{10}B , verificaram que, em espécies cujo açúcar mais abundante era o sorbitol, o B apresentou-se livremente móvel, enquanto que naquelas que apresentavam menor ou nenhuma quantidade de sorbitol, o B apresentou-se imóvel. Em espécies ricas em sorbitol, o ^{10}B foi transportado das folhas tratadas para os frutos adjacentes, especificamente para os tecidos de frutos que se desenvolveram durante o período experimental. Somente uma pequena porcentagem do ^{11}B presente na folha foi retranslocado. Em espécies ricas em sorbitol, as concentrações de B foram similares em folhas jovens e velhas, e o tecido dos frutos apresentaram as maiores concentrações. Em espécies pobres em sorbitol, as concentrações de B foram maiores nas folhas velhas do que nas novas, sendo a ocorrência deste nutriente menor nos frutos. Estes resultados foram confirmados ao se transferir o gene de produção de sorbitol, que conferiu mobilidade de B ao tabaco receptor (Brown et al., 1999).

Oertli (1993), trabalhando com plantas de tomate, observou uma diminuição na concentração de B em tecidos velhos (folhas, pecíolos e caule) pelo efeito de diluição, já que estava mais relacionada ao aumento na biomassa destes tecidos do que com a remobilização. Porém, concluíram que o B apresentou pequena remobilização, sendo translocado para as partes mais novas, enquanto que uma pequena quantidade, mas adequada, foi remobilizada para as raízes.

No caso de fertilização foliar, o B precisa ultrapassar a camada de cutícula. Shu et al. (1994a) demonstraram que o coeficiente de permeabilidade da cutícula adaxial de folhas de pessegueiro é da ordem de $10^{-7} \text{ cm s}^{-1}$. Não houve diferença nos

coeficientes de permeabilidade quando os autores variaram a concentração de B e empregaram tratamentos com surfactantes. O pH da solução teve um efeito variável sobre a penetração de B através da cutícula do lado adaxial da folha. Para os estudos de absorção de B *in vivo* em folhas de pessegueiro, o lado abaxial foi mais eficiente do que o lado adaxial, com o total de ^{10}B absorvido 4 vezes maior no lado abaxial.

Brown et al. (1992) demonstraram que o uso de isótopo estável é um método efetivo e barato de monitoramento no estudo do movimento de B em plantas e solo. A aplicação de B enriquecido, via foliar ou em solução nutritiva, e sua recuperação em frutos e castanhas, demonstram que este nutriente pode ser, pelo menos parcialmente, móvel no floema.

No estudo da aplicação de ^{10}B sobre a superfície abaxial das folhas de pessegueiro, Shu et al. (1993) observaram que o elemento marcado estava presente em todas as partes da planta 4 horas após o tratamento, exceto nas raízes finas, onde o aparecimento ocorreu após 8 horas. Concentrações altas de ^{10}B em folhas tratadas, caules verdes, e raízes finas ocorreram somente 12 horas, 4 semanas e 72 horas após o tratamento, respectivamente. Durante todo o tempo, o conteúdo de ^{10}B foi maior nas folhas (folha tratada>folha terminal>folha basal). No sistema radicular, as raízes finas apresentaram as maiores concentrações. O total de ^{10}B absorvido foi pequeno (0,2% do aplicado), porém mais de 50% deste foi exportado das folhas tratadas.

Shelp et al. (1996), trabalhando com ^{10}B em brócolis, verificaram que parte do ^{10}B aplicado via foliar foi translocado para as inflorescências via floema, ainda que uma pequena quantidade tenha sido recuperada no xilema, provavelmente após ser transferido para as raízes, via floema. A quantidade de translocação de B de folhas fonte, e sua partição

para as inflorescências, foram inversamente relacionadas com a quantidade de B na planta, sendo mais efetiva nas plantas com quantidade relativamente baixa de B.

As concentrações de B nas folhas tratadas de plantas de maçã, pêra e ameixa aumentaram significativamente o conteúdo de B nas folhas de todas as plantas testadas, 3 dias após a aplicação (DAA), e diminuíram, a níveis similares àquelas das folhas não tratadas, 9 DAA, enquanto que, em folhas de cerejeira tratadas, isso foi observado somente após 22 dias. O movimento do B aplicado foi estudado, tratando-se folhas de cerejeira com soluções de B enriquecidas com isótopo estável ^{10}B . A determinação da concentração do isótopo indicou que o B aplicado moveu-se para fora das folhas e dentro dos tecidos. As maiores concentrações do B aplicado foram encontradas em gemas, seguidas pela cortiça e depois lenho (Hanson, 1991).

A mobilidade do B aplicado via foliar em plantas do gênero *Prunus*, *Pyrus* e *Malus* e, provavelmente em outras espécies que produzam sorbitol ou manitol, sugere que as aplicações foliares de B podem ser usadas efetivamente em quaisquer folhas presentes a qualquer tempo, enquanto que em gêneros onde o B é imóvel, as aplicações foliares serão eficazes somente quando forem aplicadas diretamente sobre o tecido que necessita de B (Brown & Hu, 1997).

A redistribuição de minerais, ou sua mobilidade, pode ser determinada de diferentes formas, sendo uma delas a similaridade, que é a determinação do gradiente de concentração das folhas velhas e das folhas novas. Para um elemento relativamente móvel no floema, a concentração aumenta de folhas velhas para folhas novas, porém para um elemento com baixa mobilidade relativa, o inverso é verdadeiro (Van Goor & Van Lune, 1980).

Shelp (1988) relatou que a concentração de boro na seiva do xilema de plantas de brócolis diminuiu para a metade quando o B não foi aplicado, ou foi removido após um período de suprimento adequado, enquanto que a concentração no floema não foi afetada, desaparecendo o gradiente de concentração entre os tecidos maduros e as folhas drenos jovens. O autor concluiu que, quando o B esteve em concentrações abaixo da ideal para a espécie, ele é retranslocado das folhas fonte, através da corrente do floema, suprindo as folhas em desenvolvimento e a inflorescência. Os resultados também sugerem que, em níveis tóxicos, o B sofre extensa transferência lateral, provavelmente de xilema para xilema, aumentando, desse modo, a concentração de B nos drenos em desenvolvimento.

Em muitos resultados de pesquisas com B, a concentração do nutriente no floema é menor que nas folhas fonte (maduras), e é similar àquela encontrada nos tecidos de folhas novas, sugerindo que o floema, bem mais que o xilema, seja a fonte predominante de B para os tecidos novos (Shelp, 1993).

Shu et al. (1994b) realizaram pulverizações simples ou múltiplas de B em plantas de pêssego, aplicando em pleno florescimento, em pleno florescimento e 2 semanas após, e pleno florescimento e 4 semanas após. Não houve aumento nas concentrações de B nas folhas e nos caules coletados 45, 75 e 105 dias após pleno florescimento. Pulverizando limbos individuais com 0, 200, 400, 600 ou 1200 mg L⁻¹ de B, os autores não notaram efeito sobre as concentrações foliares de B nas partes aéreas de plantas coletadas 3 dias após o tratamento.

Brown & Hu (1998) mostraram que, em espécies que não produzem poliols, o B foi imóvel, de acordo com a técnica do gradiente de concentração. Esta observação foi corroborada com o uso da técnica de B marcado, quando não foi observada a redução do

¹⁰B em plantas que não produzem poliols, o contrário acontecendo em quase todas as que produzem tanto manitol quanto sorbitol. Hu et al. (1997) demonstram, esquematicamente, a formação do complexo manitol-B-manitol como transportador primário de B em *Apium graveolens*.

Um fator importante a ser resolvido é que, em espécies em que o B é imóvel, a estratégia de amostragem para a análise de plantas é que o B acumula nas folhas velhas e a deficiência dá-se nas folhas novas, enquanto que em espécies com mobilidade de B estas estratégias de amostragem são inadequadas (Brown & Hu, 1997).

2.3. Boro em cafeeiro

A primeira identificação da deficiência de B no cafeeiro em campo foi feita em 1953 por Franco e Mendes, mas há motivos para se crer que a deficiência já existisse há mais tempo, haja vista que os sintomas de deficiência de Zn podem mascarar os de B (Malavolta, 1986) e que o cafeeiro está entre as espécies mais sensíveis à deficiência e mais responsivas à aplicação de B (Brown & Shelp, 1997).

Segundo Haag et al. (1991), a insuficiência de zinco e de boro é provocada pelo aumento do uso de insumos minerais, devido ao esgotamento da fertilidade natural na maioria dos solos e pelo uso de variedades de café mais produtivas.

Nagai et al. (1974) observaram ainda que as maiores concentrações foliares de B em café ocorreram durante o enchimento de grãos. Resultados obtidos por Catani et al. (1967a) mostram que há necessidade de suprimento contínuo de boro, cobre, ferro e molibdênio para os frutos de cafeeiro, sendo o B o nutriente que sofreu maior variação de

conteúdo (aumento em 16 vezes), seguido do K, durante o desenvolvimento do fruto (Malavolta, 1993). Os frutos do cultivar Catimor apresentaram maior concentração de B do que os de Catuaí e este maior do que os de Mundo Novo (Garcia, 1981). Talvez esta alta variação no conteúdo de B esteja relacionada ao fato de que o teor de açúcares solúveis nos frutos de café aumenta continuamente durante o seu desenvolvimento (Rena & Maestri, 1986).

A ordem decrescente de retirada total de micronutrientes para o café é: Fe>Mn>B>Zn>Cu>Mo. Como o Fe e o Mn são mais abundantes nos solos do Brasil, o maior problema encontra-se no B e Zn (Catani et al., 1967b), porém a ordem quantitativa de absorção, para Cietto & Haag (1989), é Fe>Mn>Cu>B>Zn, apresentando uma inversão na posição do Cu.

A deficiência de boro, segundo Franco (1982), causa acentuada redução do sistema radicular pela morte das extremidades das raízes. Isto reduz a eficiência do sistema radicular na absorção de água e nutrientes, tornando o cafeeiro mais sensível à seca e prejudicando as possíveis respostas às adubações. Causando ainda o abortamento de flores e o chochamento de frutos, resultando em produções baixas.

Cietto & Haag (1989), estudando a relação entre a quantidade e os teores do B com idade de plantas e as épocas de amostragem, observaram que o acúmulo de B no caule e nos ramos de plantas de café, no mês de julho (repouso) apresentou aumento em função da idade das plantas, sendo que as folhas, nessa época, não apresentaram diferenças entre as idades. Em janeiro (granação) e junho (maturação), o caule, os ramos e os frutos apresentaram os maiores valores de concentração de B em cafeeiros mais velhos, sendo que nas folhas não ocorreram diferenças entre as idades no mês de janeiro, mas estas apresentaram maior concentração em julho. A quantidade total de B contida na parte aérea não mostrou

diferenças para cafeeiros mais novos, porém as plantas com 3, 4 e 5 anos apresentaram valores crescentes, atingindo o máximo em junho. Nas fases de granação e maturação, as proporções menores entre as quantidades de B contidas nas folhas e nos frutos foram encontrados nos cafeeiros mais velhos.

A aplicação de ácido bórico a 0,3% em dezembro, fevereiro e abril proporcionou maior produção de café cv. Caturra do que a aplicação de B via solo, sendo que os teores foliares mostraram diminuição durante o período de crescimento do fruto, não havendo correlação entre o teor foliar de B e a produção, segundo Marubayashi et al. (1994). Resultados semelhantes foram obtidos por Santinato et al. (1991), em safra alta de café cv. Mundo Novo, quando aplicaram B após uma florada fraca (início de setembro) e antes da florada forte (final de outubro), isoladamente ou em associação com Ca. O B foliar promoveu aumento na produtividade e uma retenção maior de frutos (30% acima da apresentada pela testemunha). Em safra baixa, embora a tendência tenha sido a mesma, não ocorreram diferenças na produção, mas os autores verificaram que a aplicação foliar de B implicou em aumento no teor do nutriente até 40 DAA, não sendo relatado se as folhas analisadas foram as tratadas ou não. Tratamentos com teores foliares de B semelhantes entre si não corresponderam necessariamente a produções semelhantes, portanto não sendo possível obter uma correlação entre eles.

Para o cafeeiro Catuaí Amarelo, Lima Filho & Malavolta (1992) observaram correlações positivas entre B disponível no solo e todos os parâmetros do Índice Relativo de Colheita, ocorrendo a correlação maior com o teor de B foliar, comprimento de ramos e número de folhas e ramos, e a correlação pior com massa de matéria seca de raízes, caule, ramos e folhas. Essas variáveis são importantes para a produção do café pois, segundo

Rena & Maestri, (1986), o crescimento vertical das plantas de café determina a formação de nós, e nestes, os ramos plagiotrópicos, os quais darão origem as folhas e inflorescências. Portanto, a floração depende do crescimento dos ramos, do número de nós, do número de ramos formados e do número de folhas por nó, pois se verifica que muitos nós sem folhas não florescem.

Lima Filho & Malavolta (1998) encontraram correlação positiva e significativa entre o comprimento de ramos e os teores foliares de B. A matéria seca do material vegetal não foi uma variável adequada para definir os níveis críticos de B, seja no solo seja nas folhas, o número de folhas só foi diferente para os tratamentos sem B e a área foliar unitária foi menor nas concentrações maiores de B. As MS das raízes, caule, ramos e folhas só diferiram entre os tratamentos e o controle. O comprimento de ramos foi maior à medida que aumentou a quantidade de B adicionado.

Há grande variação foliar entre resultados obtidos quanto à aplicação do B via foliar e a produtividade, provavelmente pelas doses, épocas, quantidades e produtos empregados diferentes. Para Santinato et al. (1994) de 6 a 12 aplicações por ano com soluções na concentração de 0,25% de boro orgânico (10%B) não coincidentes com as floradas, proporcionaram produtividades altas e mantiveram certa correlação entre o teor foliar de B e a produção, embora não tenham ocorrido diferenças significativas entre os tratamentos, quanto ao teor foliar de B, enquanto que Barros et al. (1996) verificaram que e a aplicação de ácido bórico a 0,3%, três vezes ao ano, produziu somente 8% acima da testemunha.

Almeida & Matiello (1996) afirmaram que a aplicação de ácido bórico via foliar a 0,5% proporcionou produções semelhantes à da testemunha, porém a aplicação de Solubor foliar apresentou maior produção de grãos, fato este não explicado pelos autores.

A aplicação foliar de solução de 0,5% de B, como ácido bórico ou Solubor, não apresentou incremento em relação a análise prévia, mas proporcionou valores superiores aos encontrados no controle, sendo que 9 meses após a aplicação, nenhum dos tratamentos diferiu da testemunha (Almeida e Matiello, 1995).

2.4. Uso de isótopo em cafeeiro

A técnica do isótopo marcado na pesquisa brasileira ainda tem a utilização restrita, seja por causa do custo tanto do produto contendo o isótopo quanto da análise do material, ou até mesmo pela falta de pessoal especializado na elaboração de projetos e na interpretação dos resultados obtidos.

O isótopo mais comumente utilizado no Brasil é o ^{15}N , sendo que para o estudo de absorção e translocação de B, usando o isótopo ^{10}B , mais especificamente em cafeeiro, não foi encontrado trabalho publicado na literatura nacional ou mesmo internacional.

Portanto, pela revisão de literatura, fica claro a necessidade de trabalhos, ao nível de Brasil, quanto à absorção e translocação de B, não somente quanto à teste de produtos, mas também quanto ao efeito morfológico, anatômico e até mesmo fisiológico deste nutriente. Nota-se a grande quantidade de trabalhos científicos internacionais quanto a esse assunto, principalmente com a utilização da técnica de isótopos estáveis, porém na foi encontrado nenhum sob condições de Brasil, o que torna este trabalho pioneiro e de suma importância.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados 4 experimentos, sendo 2 em campo e 2 em casa-de-vegetação. Nos experimentos em campo, realizados no município de Piratininga-SP durante 2 anos, o B foi aplicado somente nas folhas, enquanto que em casa de vegetação, realizado na Fazenda Experimental Lageado, Departamento de Produção Vegetal, em um experimento houve aplicação tanto em solução quanto via foliar e em outro, somente em solução.

3.1. Procedimentos comuns a mais de um experimento

Nas aplicações foliares não foram utilizados surfactantes, pois segundo Shu et al. (1994a), não há diferença nos coeficientes de permeabilidade para o B com o uso desses produtos.

Todas as amostras que necessitaram ser secas, foram levadas à estufa de circulação forçada à $60\pm 10^{\circ}\text{C}$ por 72 horas, quando necessário foram pesadas em balança

analítica e posteriormente moídas e acondicionadas em saquinhos de papel, e estes dentro de saco plástico para evitar umidade.

Em todas as amostras analisadas para B, foi utilizada a digestão a seco em mufla e o método da Azometina-H para a determinação, segundo Malavolta et al. (1997), sendo que esta e outras técnicas são mais detalhadamente explicadas por Sah & Brown (1997).

A análise isotópica de ^{10}B foi realizada seguindo a metodologia descrita por Nyomora & Brown (1999), que se segue: A digestão do material foi feita no Departamento de Pomologia da Universidade da Califórnia (EUA), pesando-se 0,250 g de material vegetal em cadinhos de porcelana e levados à mufla em temperatura de 550° C por 5 horas. Após resfriamento, as cinzas foram diluídas em 10 mL de HNO_3 1% e aquecidas ao redor de 80° C por 20 minutos, sendo posteriormente filtradas em papel de filtro e o volume completado para 50 mL com água bi-destilada, em balões volumétricos. Foi tomada uma alíquota de 15 mL da solução final, que foi levada para análise. Para as determinações feitas no Laboratório de Geologia e Oceanografia da Universidade do Oregon (EUA), utilizou-se do aparelho ICP-MS da PQ ExCell, sendo os parâmetros de trabalho apresentados no Apêndice 1.

Para os cálculos feitos para a translocação de B, foi escolhida a fórmula segundo Trivelin (2000) que é uma modificação de Brown (1992) e Shelp et al. (1996):

$$\text{Abundância isotópica na amostra} = \text{Teor do isótopo } ^{10}\text{B na amostra} / \text{Teor de B na amostra}$$

$$B_{\text{pff}} (\%) = \text{Abund. isotópica} - \text{Abund. natural} / \text{Abund. no fertilizante (0,3427)} * 100$$

lembrando que a abundância natural é a abundância encontrada na amostra não tratada com isótopo. Outras fórmulas obtidas na literatura são descritas no Apêndice 2.

3.2. Experimento 1: Alterações morfológicas e produção

Um experimento de campo foi conduzido em cafeeiro (*Coffea arabica*, var. Catuaí Vermelho) com 4 anos de idade, em produção, de um plantio comercial. O resultado da análise do solo retirado entre as plantas da área do cafezal foi: pH em CaCl_2 de 5,35, matéria orgânica de $93,8 \text{ g kg}^{-1}$, $6,4 \text{ mg dm}^{-3}$ de P, $19,1 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ de H+Al , K^+ igual a $1,5 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$, $10 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ de Ca^{++} , $7,7 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ de Mg^{++} e CTC igual a $38,3 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$, e 58% de saturação por bases. O teor de B no solo na implantação do experimento era de $0,13 \text{ mg kg}^{-1}$ de B, estando classificado como pobre segundo Haag et al. (1991).

A prática da calagem não foi efetuada durante o período experimental, e seguiu-se a mesma rotina de condução da lavoura, que recebeu 2 aplicações foliares de 1,0 g de sulfato de zinco e 2,5 g de sulfato de cobre por planta, 4 adubações de 100g cada planta de Nitrato de Amônio e 2 aplicações de 50g cada planta de Cloreto de Potássio, entre os meses de outubro de 1998 e abril de 1999. Antes da aplicação foliar foi realizada a análise de folhas para B, a qual apresentou nível médio de $6,8 \text{ mg kg}^{-1}$ de B, sendo este teor considerado baixo, segundo o estabelecido por Lima Filho & Malavolta (1992) e Malavolta (1993). Embora tanto o teor do solo quanto o teor foliar apresentarem-se baixos, as plantas não apresentavam sintomas de deficiência.

Os tratamentos utilizados estão descritos no Quadro 1. Os tratamentos foram repetidos em 6 blocos, originando um esquema experimental com 60 parcelas, sendo cada parcela composta por 6 plantas, totalizando 360 plantas.

As aplicações foliares foram realizadas utilizando-se o volume de calda de 0,250 L por planta, aplicado com um pulverizador costal alimentado por CO₂, mantendo-se a pressão (40 psi) e vazão constantes.

As amostragens foram realizadas 30 e 90 dias após cada aplicação e na colheita. Porém, no segundo ano fez-se uma amostragem aos 120 dias após a aplicação, pois houve atraso no desenvolvimento dos frutos, ocasionado por falta de chuvas.

Quadro 1 - Descrição dos tratamentos para aplicação via foliar de B em cafeeiro, em duas épocas (pré-florada e chumbinho) com três doses e uma testemunha. Safras de 98/99 e 99/00.

Tratamentos	Pré-florada	Grãos (chumbinho)	
		B (mg L ⁻¹)	
1	0	250 ⁽¹⁾	
2	0	500	
3	0	750	
4	250	0	
5	500	0	
6	750	0	
7	125	125	
8	250	250	
9	375	375	
10	0	0	

Foram amostrados 2 ramos plagiotrópicos produtivos opostos, da parte mediana da planta, em 2 plantas por parcela, escolhidas ao acaso. Estes foram cortados deixando-se 1 nó, para que brotasse no ano seguinte e não causassem perdas ao proprietário da área experimental.

Os ramos plagiotrópicos coletados foram divididos em 3 partes, denominadas de proximal, mediana e distal em relação ao ramo ortotrópico. Cada porção do

ramo foi separada em folhas, haste e estruturas reprodutivas. Foram determinadas as massas de material seco das folhas e dos frutos, o número de nós de cada parte do ramo, o número de ramos secundários, o número de folhas e o teor de B no tecido.

A colheita final de frutos foi realizada na mesma época do restante da propriedade, sendo os frutos coletados sobre lona plástica, abanados em peneiras para a retirada de impurezas, colocados em sacos de estopa e pesados em balança comercial aferida e tarada. Então foram levados para secagem em estufa a $60 \pm 10^\circ \text{C}$, e após estarem secos, foram pesados novamente e levados para beneficiamento.

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados e os tratamentos distribuídos em fatorial de 3 doses de ácido bórico e 2 épocas de aplicação, com uma testemunha. Para a comparação das médias foi utilizado o teste t de DMS no nível de 5% de probabilidade.

Em complemento a este experimento, foi realizado outro em plantas de segundo ano de frutificação. Foram escolhidas 20 plantas homogêneas, na mesma linha de plantio e nestas foram escolhidos 4 nós em ramo situado a altura média da planta, fazendo-se uma avaliação prévia do número de flores. Alternadamente, foram aplicados 500 mg L^{-1} de B ou a mesma quantidade em água destilada, e foram realizadas avaliações de pegamento dos frutos aos 30, 60 e 120 dias após a aplicação, totalizando 40 grupos de flores avaliadas para as plantas tratadas e não tratadas, por avaliação.

Na análise estatística não foram encontradas diferenças entre as médias, em qualquer das datas de avaliação.

3.3. Experimento 2: Boro enriquecido

Foram utilizadas mudas de plantas de café da variedade Catuaí Vermelho, germinadas em substrato comercial e transplantadas, quando apresentavam de 6 a 7 pares de folhas, para vasos com 17 L de capacidade, preenchidos com aproximadamente 2 L de brita e 15 L de areia lavada com água durante dois dias ininterruptos.

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação coberta com plástico e circundada com tela branca. A irrigação foi feita através de um sistema de gotejamento com tubo gotejador que proporcionou a mesma quantidade de água para todos os vasos, tomando-se o cuidado para não saturar totalmente o vaso.

O fornecimento de nutrientes foi baseado em receita para experimentos em solução nutritiva. Porém, como as plantas cresceram em meio de areia lavada e não em contato direto com a solução nutritiva, houve a necessidade de adaptação, partindo-se de uma fórmula básica quanto à concentração e de uma quantidade preestabelecida para que não ocorressem queimas nas plantas recém transplantadas. Observou-se, pelo aspecto geral das plantas, que a quantidade e a concentração aplicadas estavam aquém das necessárias, sendo realizada uma série de tentativas até se conseguir uma que se ajustasse às condições do experimento, sendo alguns destes passos apresentados no Quadro 2.

Quadro 2 - Receitas utilizadas no experimento com cafeeiro cultivado em areia lavada sob casa-de-vegetação, demonstrando a quantidade de macronutrientes (g) e micronutrientes (mg) e a concentração final em ppm.

FONTE	Quantidade da fonte por L (g ou mg)				Concentração em mg L ⁻¹		
	0,5 F ⁽¹⁾	1 F ⁽²⁾	5 F*25 ⁽³⁾	5 F*75 ⁽⁴⁾	0,5 F	1 F	5 F
NH ₄ H ₂ PO ₄	0,39	0,77	3,87	11,61	15,5	31,0	155
KNO ₃	2,93	5,87	29,33	87,98	117,3	234,6	1173
Ca(NO ₃) ₂	2,00	4,00	20,00	60,00	80,0	160,0	800
MgSO ₄	0,61	1,22	6,08	18,23	24,3	48,6	243
CuSO ₄	0,50	1,00	4,80	14,30	0,02	0,04	0,2
MnCl ₂	12,40	24,70	123,60	370,80	0,50	0,10	5,0
ZnSO ₄	1,30	2,60	13,10	39,20	0,05	0,10	0,5
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,20	0,50	2,40	7,20	0,01	0,02	0,1
Fe-EDTA	0,10	0,30	1,40	4,20	0,01	0,02	0,1

(1) - Solução com 0,5 (meia) força utilizada nos 15 primeiros dias após transplante (DAT) das plantas, aplicando-se 100 mL/vaso.

(2) - Solução com 1 (uma) força, utilizada por 30 dias, após 15 DAT, aplicando -se 100 mL/vaso.

(3) - Solução com 5 (cinco) forças, utilizada por 90 dias, após 45 DAT, aplicando -se 100 mL/vaso.

(4) - Solução com 5 (cinco) forças, utilizada de 135 DAT até 365 DAT, aplicando -se 300 mL/vaso.

No decorrer do experimento observaram-se sintomas de deficiência de Cu e Mo, os quais foram supridos através de duas pulverizações foliares. A solução nutritiva (Quadro 2) foi aplicada semanalmente, na quantidade de 300 mL por vaso, sendo que as plantas receberam solução contendo boro (200 mL da solução de 50 mM B em 75 litros de solução final) a cada 15 dias por 12 meses juntamente com a solução dos outros nutrientes, sendo o teor foliar de B foi monitorado periodicamente durante este período.

Depois de decorridos 12 meses, os tratamentos foram aplicados iniciando-se com a aplicação de solução de 0,3g 100mL⁻¹ de ácido bórico via foliar e/ou em solução, originando os tratamentos que estão descritos em E2 no Quadro 3, por 3 meses, e dos 15 aos 20 meses, os tratamentos conforme E3.

O esquema de aplicações de solução com B, avaliações e tempo de cada época, para este experimento, é mais bem descrito na Figura 1.

Quadro 3 - Descrição dos tratamentos realizados com diferentes aplicações de B em café.

Tratamentos	E1 ⁽¹⁾	E2 ⁽²⁾	E3 ⁽³⁾
1	B	-	-
2	B	B _f ⁽⁴⁾ - B _s ⁽⁵⁾	¹⁰ B _s ⁽⁶⁾
3	B	B _s	B _s
4	B	¹⁰ B _s	-
5	B	B _s	¹⁰ B _s
6	B	¹⁰ B _s	B _s
7	B	¹⁰ B _f + B _s	B _s
8	B	¹⁰ B _f - B _s	-
9	B	-	¹⁰ B _s

⁽¹⁾ Época 1 – 12 meses após transplante.

⁽²⁾ Época 2 - 12 a 15 meses após transplante.

⁽³⁾ Época 3 – 15 a 20 meses e 10 dias após transplante.

⁽⁴⁾ Boro aplicado via foliar.

⁽⁵⁾ Boro via solução nutritiva.

⁽⁶⁾ Boro marcado via solução nutritiva.



Figura 1. Representação esquemática dos tratamentos e épocas de aplicação de solução nutritiva em experimento de cafeeiro sob casa-de-vegetação.

No final das épocas E1 e E2, as plantas receberam marcas em seus pontos de crescimento, nos ramos ortotrópico e plagiotrópicos. Quando do início de E2, as gemas florais já estavam presentes, abrindo-se cerca de 15 a 20 dias após.

Foi feita a coleta do primeiro ramo originado durante E2, aos 140 dias do início de E3, amostra esta denominada “prévia”. O ramo foi dividido conforme a marcação

que separava as épocas e avaliado quanto a comprimento de ramo, número de nós, número de folhas, massa de material seco de folhas e ramos.

Ao final de E3, as plantas foram colhidas, divididas de acordo com as marcas e separadas em raízes, hastes, folhas e estruturas reprodutivas. Foi avaliada a produção de material seco e determinado o B nos tecidos.

O controle fitossanitário foi efetuado aplicando-se fungicida via foliar e inseticida granulado, periodicamente, de maneira preventiva e durante o transcorrer do experimento não foi observado ataque de patógenos ou insetos que prejudicassem os resultados obtidos.

O delineamento experimental para a coleta final foi o de parcelas subdivididas no tempo para as variáveis relativas ao B e, na coleta prévia, como para as raízes e os frutos, foi feita somente a coleta final, e analisou-se como blocos casualizados. O experimento consistiu de 9 tratamentos, com 4 repetições, formando 36 parcelas, sendo as parcelas constituídas por 4 plantas, totalizando 144 plantas.

Os Quadros 4 e 5 apresentam os quadros de análise de variância utilizados, empregando-se o teste t (DMS) a 5% de probabilidade na comparação das médias.

Quadro 4 - Quadro de análise de variância dos resultados para a análise da coleta “prévia”, raiz e frutos de cafeeiro, em casa-de-vegetação, sob diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Teste F
Tratamentos	8	SIM
Blocos	3	SIM
Resíduo	24	NÃO
Total	35	

Quadro 5 - Quadro de análise de variância dos resultados para as variáveis relativas a concentração de B nas folhas e nos ramos de cafeeiro, em casa-de-vegetação, sob diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Teste F	Q.M. Denominador
Tratamentos	8	SIM	Resíduo Trat.
Blocos	3	SIM	Resíduo Trat.
Resíduo Trat.	24	NÃO	
Parcelas	35	NÃO	
Épocas	1 (2) *	SIM	Resíduo Época
Tratamentos x Épocas	8 (16)	SIM	Resíduo Época
Resíduo Época	27 (54)		
Total	71 (107)		

* - Números entre parênteses relacionam-se à análise das médias da coleta final.

3.4. Experimento 3: Pincelamento de ácido bórico enriquecido

Para o experimento de pincelamento, foi feita uma solução de 500 mg L⁻¹ de ácido bórico enriquecido por ¹⁰B (34,27% de ¹⁰B). Esta solução foi separada em 21 tubos plásticos que, juntamente com as hastes de algodão, foram pesadas antes e depois da aplicação para se saber a quantidade aplicada.

Foram escolhidas 3 plantas ao acaso no campo, com 5 anos de idade e em produção, e marcados 7 ramos, totalizando 21 parcelas. Utilizando-se as hastes de algodão, as folhas foram pinceladas na parte adaxial, deixando-se sem aplicação os dois últimos nós, considerando-se o primeiro nó com folhas totalmente abertas, os quais foram marcados com barbantes numerados. As folhas dos ramos laterais também foram pinceladas desde que estes

ramos apresentassem mais de 2 nós. Os ramos laterais sem marcação na época da avaliação foram descartados.

As avaliações foram realizadas a cada 30 dias, estendendo-se por mais 180 dias (totalizando 7 coletas), sendo colhidos 3 ramos em cada coleta, sendo cada um correspondendo a uma parcela individual.

A parte apical do ramo, não tratada, foi cortada e denominada ponteiro, e o restante do ramo dividido e cortado em três porções iguais. Cada porção foi separada em folhas, haste e estruturas reprodutivas, das quais determinou-se a massa de material seco das folhas e dos frutos, o número de nós de cada parte do ramo, o número de ramos secundários e o número de folhas. As transformações dos resultados de isótopos foram feitas conforme o experimento 2.

3.5. Experimento 4. Fracionamento Celular

O objetivo deste experimento foi determinar, de maneira alternativa, a quantidade de B solúvel nas folhas de cafeeiro de diferentes cultivares. Utilizando-se plantas das cultivares Catuaí Vermelho e Mundo Novo, adquiridos da Cooperativa de Cafeicultores de São Manuel, São Manuel-SP, estas plantas foram transplantadas para vasos de 12 L de capacidade, preenchidos com areia lavada e que receberam a mesma solução do experimento 3, com diferença nas doses de B, que foram denominadas “ausência”, não sendo aplicado B, “suficiência”, a qual recebeu a dose de 5 μ M de B em solução por vaso, uma vez por semana, recomendada pela solução de Hoagland, e “toxidez”, na qual foram aplicados 25 μ M de B.

Quando as plantas em deficiência apresentaram os primeiros sintomas, fez-se a coleta de folhas dos ramos do oitavo nó a partir do ápice, e nesse, a quarta folha completamente aberta, em todos os vasos, em todas as plantas, sendo separadas pelos tratamentos. Foi determinada a mesma posição anatômica para não haver, teoricamente, interferência de idade entre os tratamentos. Das duas folhas do nó, uma foi coletada para a separação de parede celular e a outra para a determinação de B total. Cada porção foi lavada em água destilada somente para retirar impurezas da superfície, foi seca em papel absorvente, medida a massa de material fresco e então se seguiu a metodologia específica para cada objetivo.

As folhas para a separação de parede celular foram acondicionadas em recipientes plásticos, cobertas com solução de TRIS-HCl/sacarose pH 7,0 e levadas ao congelador a -3°C , para posterior processamento. A metodologia para o armazenamento e a filtragem de material foi modificada de Sacramento (1998) e a de extração baseada na utilizada por Kobayashi & Matoh (1997).

A solução de TRIS-HCl/sacarose pH 7,0 é composta de uma solução tampão de TRIS (PM=121,14) 0,05mol e uma solução de sacarose (PM=342,31) 0,03mol, posteriormente homogeneizadas e o volume completado para 1 L com água destilada, sendo o pH corrigido a 7,0 com HCl 1 N.

Quando foi feito o processamento, as folhas foram retiradas 24h antes do congelador e levadas à geladeira para descongelamento. Na moagem foi utilizado moinho tipo rolo e a própria solução em que as folhas estavam imersas foi utilizada para molhar o macerado e facilitar o desprendimento do moinho, sendo necessário sempre algum volume, da solução tampão, a mais para a lavagem completa, e o material moído foi coletado em copos

plásticos descartáveis que retornaram para a geladeira, até o final do processamento de todas as amostras.

Para a filtragem foi utilizado um sistema de erlenmeyer ligado a uma bomba de vácuo, um funil e 2 filtros. O filtro superior era uma tela plástica de aproximadamente 25 mesh para reter as partes maiores e abaixo um filtro de fibra de vidro para reter as partículas menores, sendo os dois móveis. Esse sistema foi utilizado pois se verificou que a utilização de somente a tela ou o filtro, acarretou perdas de material ou entupimento, respectivamente.

Em cada filtragem, o copo foi lavado com aproximadamente 10 mL da solução tampão, a qual foi jogada sobre o material no filtro.

O material retido nos filtros foi colocado em béquer de vidro e imediatamente lavado 3 vezes com solução de etanol 99,5%, sempre utilizando-se o mesmo esquema de filtragem para todas as lavagens realizadas. Após as lavagens, foi colocado o dobro de etanol 98% em relação ao material filtrado e deixado por 1h, sendo filtrado novamente e o resíduo submetido a uma solução de clorofórmio 98,5% e metanol 99,5% (2:1) na mesma proporção do etanol, por 14h, realizando-se nova filtragem e o resíduo lavado com solução de acetona por 1h, filtrado novamente e ao resíduo retido nos filtros denominou-se fração de parede celular, que foi seco ao ar por 48h. (Kobayashi & Matoh, 1997).

Aproveitando-se este material, foram coletadas amostras de folhas e ponteiros de ramos para a avaliação em microscópio eletrônico de varredura, tomando-se o cuidado de utilizar folhas com a mesma idade morfológica, e de ramos proporcionais. Foram amostradas folhas recém expandidas, pois foi nestas que os sintomas de deficiência de B apareceram, e o ponteiro do ramo, fazendo-se o mesmo para as plantas com nível de

suficiência de B. As plantas com níveis de toxidez não foram amostradas pois não apresentaram sintomas.

As amostras foram processadas e analisadas no Departamento de Patologia da Faculdade de Veterinária da USP – São Paulo, sendo o processamento das amostras o seguinte:

1. ao serem coletadas, as amostras foram mergulhadas em solução de Glutaraldeído a 2,5%, diluído em tampão fosfato, e levadas à geladeira, onde permaneceram 3 dias até serem processadas;
2. após esse período, as amostras foram lavadas 3 vezes, por 10 minutos cada, em solução de NaCl a 0,9%, para a retirada do Glutaraldeído;
3. seguido da última lavagem, as amostras foram tratadas com tetróxido de ósmio a 1%, diluído na mesma solução em que o Glutaraldeído estava, e aí permaneceram por 2h;
4. foram novamente lavadas 3 vezes com a solução de NaCl a 0,9% por 10 minutos cada;
5. a seguir foi efetuada a desidratação, com lavagens sucessivas de soluções de álcool a 50, 70, 80 e 90%, por 15 minutos cada;
6. fazendo-se 4 lavagens com álcool a 100%, de 15 minutos cada;
7. após a última lavagem, as amostras foram coladas com cola de carbono em “stubs” e seguiram para uma máquina para a retirada do álcool e saturação por CO₂ líquido;
8. sendo, então, metalizadas com ouro para serem analisadas.

A avaliação foi realizada em microscópio eletrônico de varredura fabricado pela LEO Eletron Microscopy Ltd, modelo 435 VP, com visualização em alto vácuo, utilizando-se, para fotos, o filme NEOPAN ACROSS 100, 120 mm e papel para revelação Kodabrome 2 RC.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

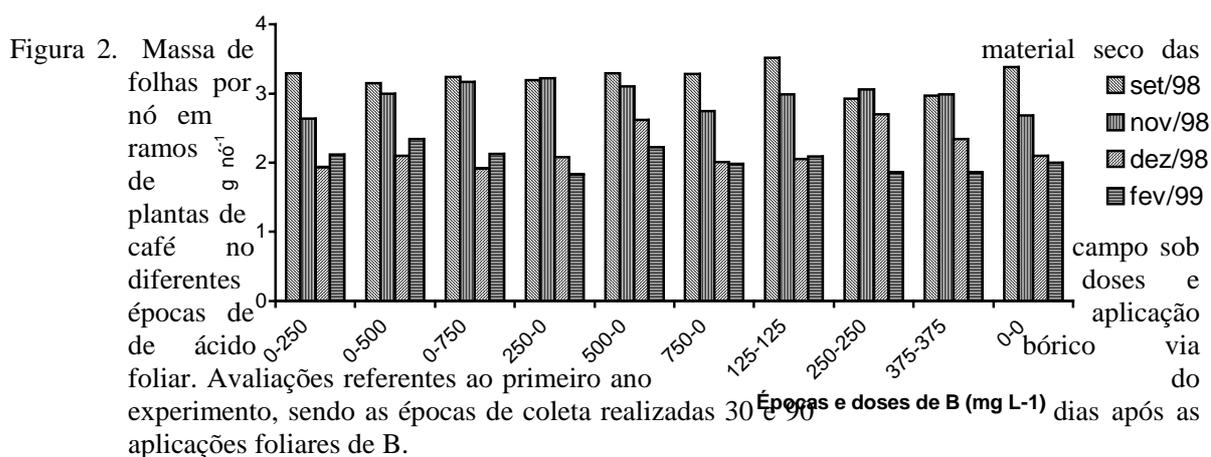
4.1. Experimento 1 : Alterações morfológicas e produção

Analisando o experimento como um fatorial de 3 épocas (aplicação em pré-florada, pós florada e pré e pós-florada) com 3 doses (250, 500 e 750 mg L⁻¹ de B), sem considerar a testemunha, ou como tratamentos independentes, não foi verificado efeito dos tratamentos, seja dentro das porções do ramo, seja no total por ramo, dentro de cada coleta, para as variáveis analisadas, por isso não serão apresentados quadros ou figuras de resultados.

A análise estatística das porções dos ramos demonstrou que o material seco de folhas, material seco das folhas por nó, o número de folhas e o número de nós seguiram sempre a ordem: porção distal > mediana > proximal, independentemente dos tratamentos, ocorrendo algumas inversões entre distal e mediano, devido ao maior número de ramos secundários na região mediana.

Observa-se que a massa de material seco de folhas por nó (Figuras 2 e 3) apresentou grande variação nos resultados entre os dois anos de experimento, sendo bem

menor em ano de safra baixa, concordando com Rena & Maestri (1986) que a presença dos frutos estimula a fotossíntese da planta, tanto que cafeeiros com frutos apresentam mais matéria seca que os sem frutos, fato que é atribuído à menor taxa de fotorrespiração nos cafeeiros com frutos.



Nas avaliações iniciais de cada ano, não foram encontradas diferenças quanto ao número de nós para as porções proximal e mediana, sendo estas menores que a distal em todos os tratamentos, porém, nas últimas avaliações, a porção mediana apresentou-se com um número de nós maior do que a proximal, mas ainda menor que a distal.

Nas Figuras 4 e 5 pode-se verificar o aumento gradativo da massa de material seco de frutos com o passar do tempo. Somente houve diferença entre tratamentos na terceira avaliação, porém não houve correlação entre as diferenças apresentadas com a aplicação ou não de B.

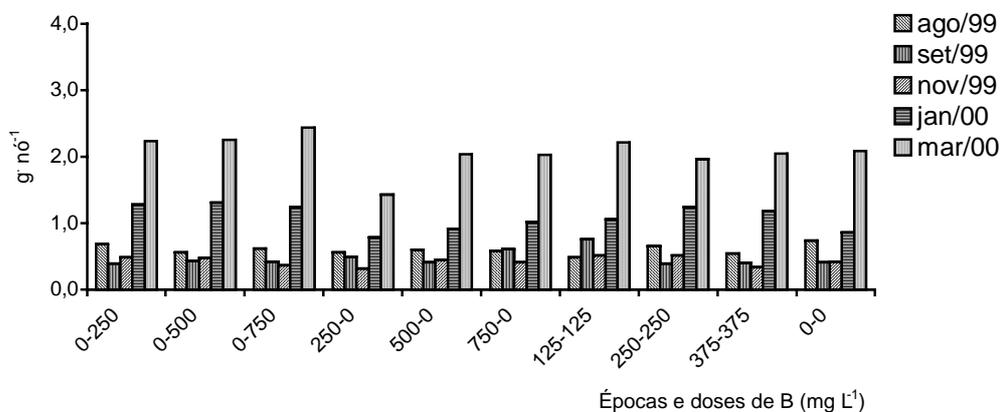


Figura 3. Massa de material seco de folhas por nó em ramos de plantas de café no campo sob diferentes doses e épocas de aplicação de ácido bórico via foliar. Avaliações referentes ao segundo ano de experimento, sendo as épocas de coletas realizadas 30 e 90 dias após as aplicações foliares de B, e a última após 120 dias.

A massa de material seco de frutos por nó, independentemente dos tratamentos, foi maior para a porção proximal, seguida da mediana e posteriormente da distal.

Esses resultados concordam, em parte, com os relatados por Lima Filho & Malavolta (1998), que descreveram não ter encontrado diferenças, entre os tratamentos, para o material seco de ramos e folhas e o número de folhas, embora os tratamentos tenham diferido da testemunha, o que não ocorreu neste experimento.

O teor de B nas folhas, ramos e frutos também não apresentou diferenças significativas entre tratamentos, por isso não serão apresentados quadros ou figuras dos resultados.

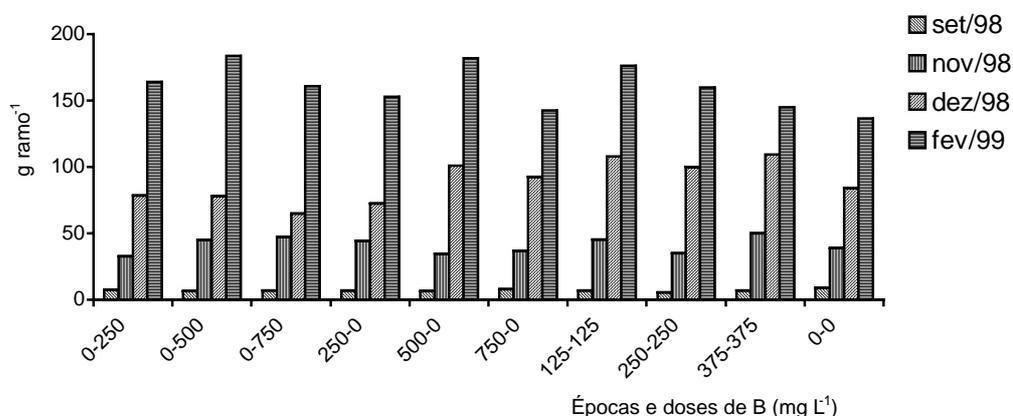


Figura 4. Massa de material seco de frutos em ramos de plantas de café no campo sob diferentes doses e épocas de aplicação de ácido bórico via foliar. Avaliações referentes ao segundo ano de experimento, sendo as épocas de coleta realizadas 30 e 90 dias após as aplicações foliares de B.

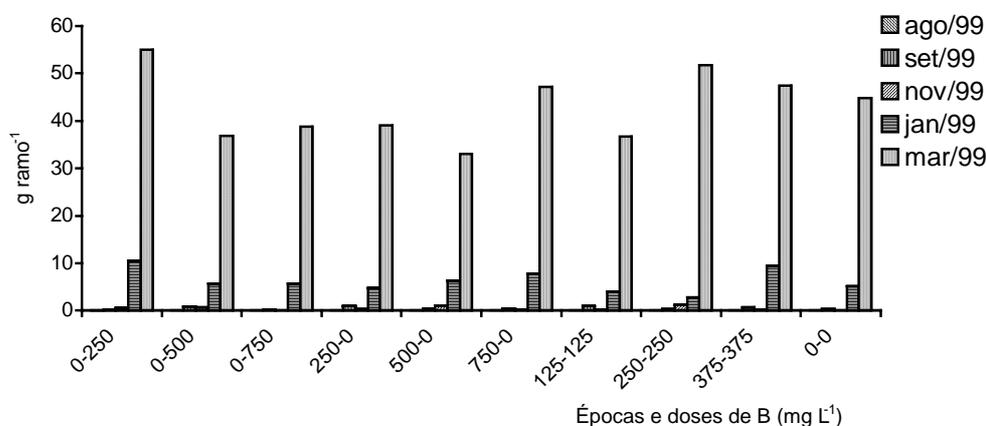


Figura 5. Massa de material seco de frutos em ramos de plantas de café no campo sob diferentes doses e épocas de aplicação de ácido bórico via foliar no segundo ano de condução do experimento. Avaliações referentes ao segundo ano de experimento, sendo as épocas de coleta realizadas 30 e 90 dias após as aplicações foliares de B, e a última após 120 dias.

Entre as porções de ramo, o teor foliar de B seguiu a ordem proximal > mediano > distal, indicando que o B em cafeeiro é pouco móvel, segundo as determinações de Van Goor & Van Lune (1980). Porém, pelos teores foliares de B (Figura 6), as plantas

encontravam-se sob condições limitantes, segundo Lima Filho e Malavolta (1992) e Malavolta (1993), o que também pode ter limitado a translocação, pois nessas condições, a maior parte do B está ligada fortemente em compostos da parede celular (Matoh, 1997).

Os teores de B nos ramos e frutos de cafeeiro no campo apresentaram ordem inversas dos foliares, em relação às porções do ramo, sendo a porção distal maior que a mediana e esta maior que a proximal.

A aplicação de B em pré e pós-florada não afetou significativamente a produção de grãos de café tanto na safra alta quanto na safra baixa. Embora esses resultados sejam semelhantes aos encontrados por Almeida & Matiello (1996), que utilizaram uma dosagem maior do que a utilizada neste experimento, foram discordantes dos de Santinato et al. (1991).

A não diferença entre tratamentos na safra 98/99 pode ter sido consequência de um veranico ocorrido no mês de novembro, que acabou limitando as possíveis respostas da aplicação boratada. Como a partir deste veranico houve uma boa distribuição de chuvas, e as adubações nitrogenadas e potássicas realizadas foram bem feitas, ocasionou em uma produtividade alta, com média de 120 sacos de grãos beneficiados por hectare. Em contrapartida, na safra de 99/00, aconteceu uma seca prolongada logo após a primeira florada, em setembro, culminando em abortamento das flores e frutos, atrasando a florada “forte” e comprometendo tanto a produção, que foi de somente 38 sacos de grãos beneficiados por hectare, como também o experimento em questão.

Quadro 6 – Resultados das colheitas finais, realizadas nas safras 1998/1999 e 1999/2000, de frutos de café beneficiado, teor e quantidade de B contida nos frutos e na palha de café em experimento com B em diferentes doses e épocas de aplicação na safra de 98/99. Médias de 3 plantas com 6 repetições, colhidas sobre peneira.

B mg L⁻¹	Produção (kg ha⁻¹)		Teor de B (mg kg⁻¹)		Quantidade B (g ha⁻¹)	
	98/99	99/00	Grãos	Palha	Grãos	Palha
0 – 250	6540	1966	8,9	17,4	60,1	82,1
0 – 500	5434	1820	8,6	15,6	46,9	63,4
0 – 750	5757	1765	10,1	18,5	58,0	80,6
250 – 0	5891	2170	8,3	15,6	48,6	67,3
500 – 0	6180	1592	9,4	18,8	58,5	89,0
750 – 0	6020	1980	13,4	17,0	81,1	73,9
125 – 125	5580	1998	10,5	16,1	59,0	63,1
250 – 250	6427	1986	7,5	17,7	48,4	83,4
375 - 375	6277	2144	7,7	18,4	49,4	81,1
0 - 0	6223	1867	9,6	15,6	60,0	75,5

Não houve correlação entre as doses aplicadas e os teores foliares de B, e entre os teores foliares e a produção final, resultados que são semelhantes aos apresentados por Marubayashi et al. (1994), que observaram um aumento na produção de grãos de café com 3 aplicações de ácido bórico. Barros et al. (1996), verificaram que a aplicação de B ao solo implicou em um aumento na produção, porém a aplicação foliar de ácido bórico em 3 vezes, praticamente, não acarretou diferença em relação à testemunha.

O menor teor foliar de B apresentado na coleta prévia (Figura 6), em relação à porção distal, de onde as folhas foram retiradas, pode ser devido à amostragem somente de um par de folhas, enquanto que na coleta dos tratamentos englobaram-se folhas mais velhas da porção distal, ou mesmo porque a coleta prévia foi realizada em agosto, época seca, o que pode ter prejudicado a absorção radicular de B.

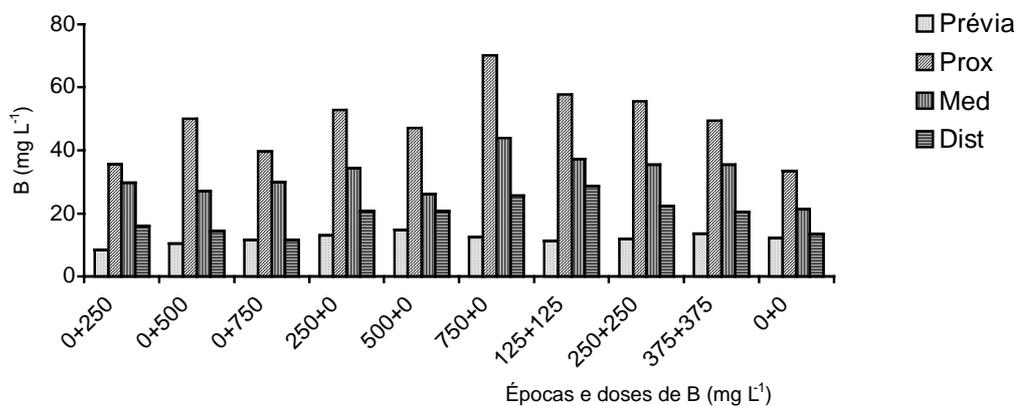


Figura 6. Teores foliares de B em ramos que foram divididos em 3 partes, em coleta realizada 30 dias após a aplicação foliar de doses de ácido bórico em pré-florada (setembro/98), comparando-se com análise prévia realizada imediatamente antes da aplicação, coletando-se folhas do terceiro nó de ramos do terço mediano da planta (Malavolta, 1986).

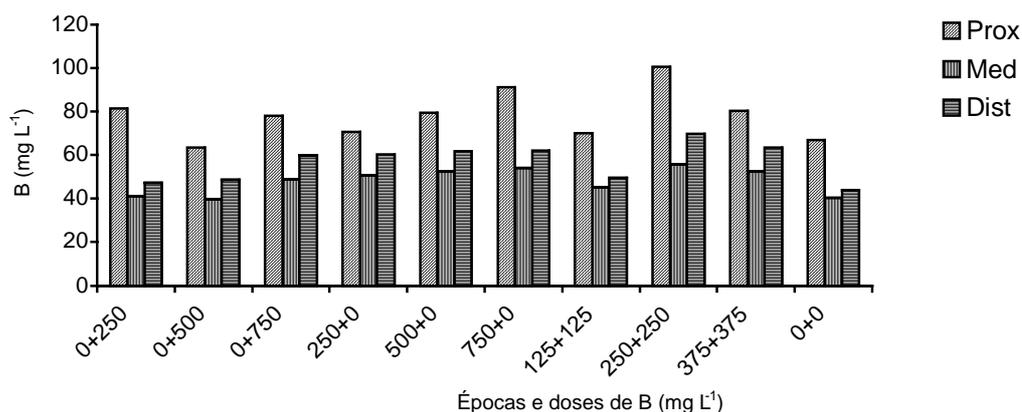


Figura 7. Teores foliares de B em ramos que foram divididos em 3 partes, em coleta realizada 90 dias após a aplicação foliar de doses de ácido bórico em pré e/ou pós-florada (fevereiro/99).

Observa-se, pela comparação entre as Figuras 6 e 7, que os teores foliares aumentaram em todos os tratamentos, inclusive naqueles em que não foi aplicado B. Isto se deve ao fato de que na primeira coleta, realizada em setembro, estar-se no início do período de chuvas, enquanto que a que foi realizada 90 dias após a aplicação em pós-florada, feita em fevereiro, foi realizada no período final das chuvas, favorecendo a absorção do B

remanescente no solo, concordando com o que foi relatado por Xie et al. (1992) em plantas de algodão. Outra hipótese é a relatada por Nagai et al. (1974) de que as maiores concentrações foliares de B são encontradas durante o enchimento dos frutos.

Não observou-se diferenças significativas das aplicações foliares sobre o teor de B nos ramos (Figuras 8 e 9), seja 30 ou 90 dias após a aplicação. Porém para 30 DAA observou-se aumento nos teores nos tratamentos com B, com exceção da dose de 500 mg L⁻¹, praticamente não sendo observadas diferenças entre as porções, o que não foi verificado quanto ao teor foliar, e que pode ser um indício de translocação.

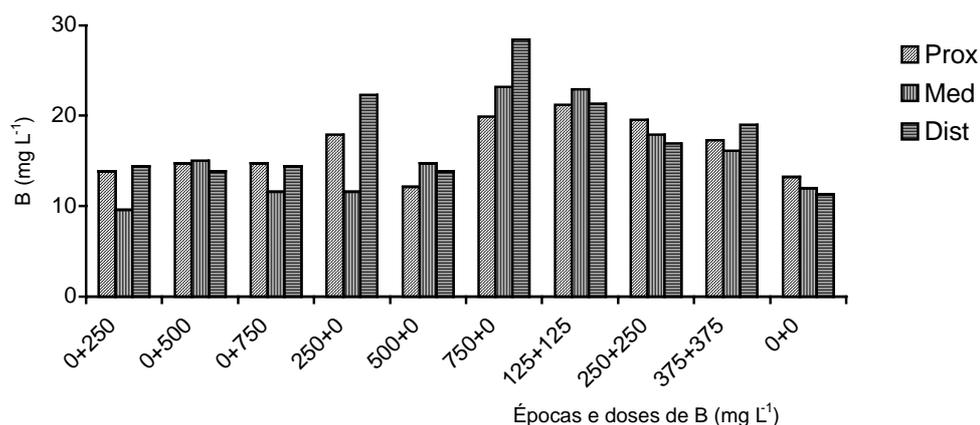


Figura 8. Teores de B na haste de ramos que foram divididos em 3 partes, em coleta realizada 30 dias após a aplicação foliar de doses de ácido bórico em pré-florada (setembro/98).

Comparando-se as duas Figuras, observa-se que o teor de B nos ramos da porção distal, na época de chuvas (fevereiro), é maior que nas outras porções, diferentemente do ocorrido na avaliação de setembro, onde os maiores teores foram encontrados na porção proximal, e que em valores absolutos também foram menores em todas as porções, quando comparados com a avaliação de fevereiro. Isto demonstra claramente o

conceito dreno dos tecidos mais jovens, que têm preferência pelo material absorvido pelas raízes ou mesmo retranslocado das folhas, juntamente com o efeito diluição.

O maior teor de B na porção distal do ramo (Figura 9) pode ser resultado da maior absorção de B proveniente do solo, por causa da maior disponibilidade de água, conjuntamente com o fator diluição nas porções mais velhas e a alta necessidade de B nos pontos de crescimento, para permitir o desenvolvimento do ramo e de folhas novas.

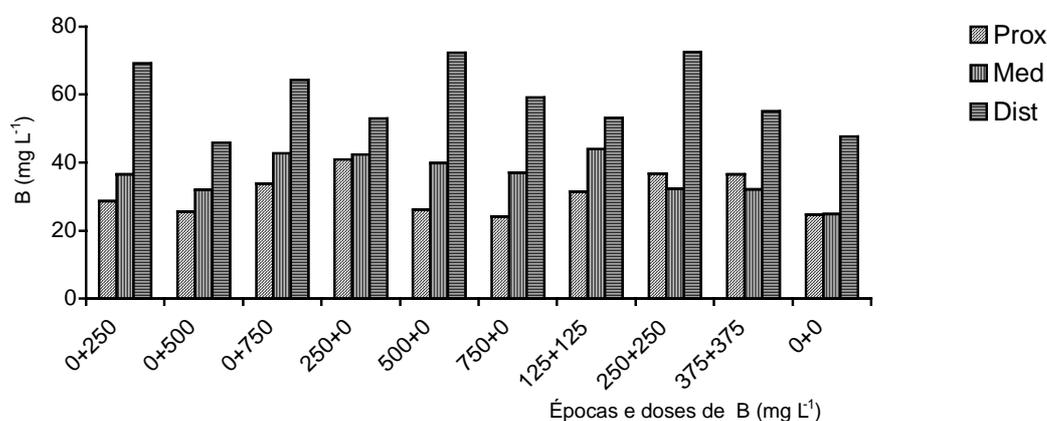


Figura 9. Teores de B na haste de ramos que foram divididos em 3 partes, em coleta realizada 90 dias após a segunda aplicação foliar de doses de ácido bórico em pré e/ou pós-florada (fevereiro/99).

Os teores de B nos frutos (Figuras 10 e 11) não apresentaram correlação com a aplicação de B, independente da porção do ramo analisada.

Houve um aumento nos teores de B à medida que o fruto se desenvolveu, confirmando a necessidade de suprimento contínuo de B para os frutos, descrito por Catani et al. (1967a).

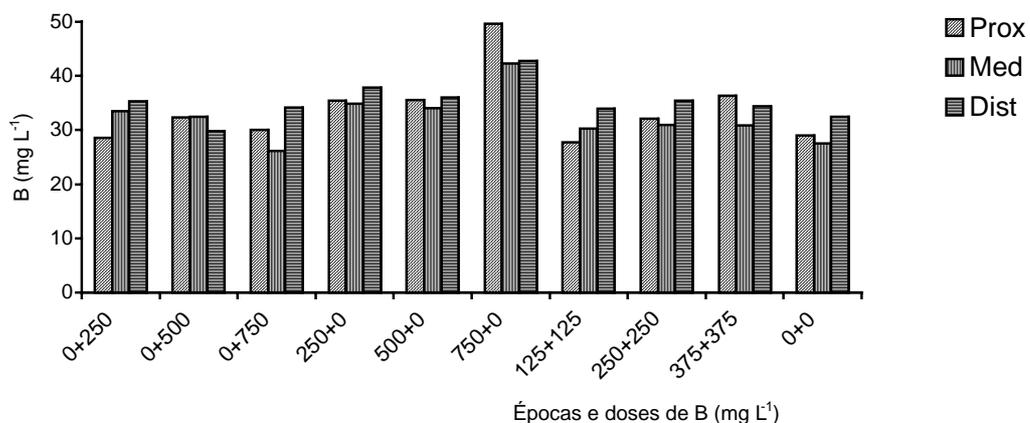


Figura 10. Teores de B nos frutos de ramos que foram divididos em 3 partes, em coleta realizada 30 dias após a aplicação foliar de doses de ácido bórico em pré-florada (setembro/98).

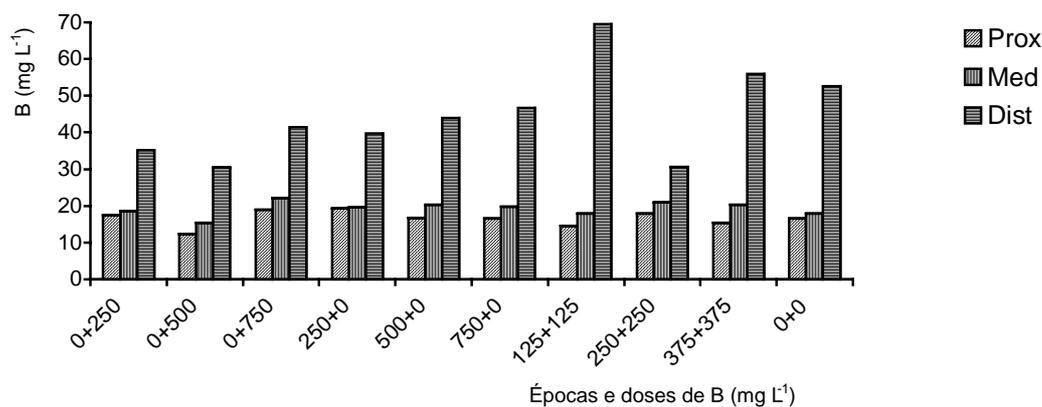


Figura 11. Teores de B nos frutos de ramos que foram divididos em 3 partes, em coleta realizada 90 dias após a aplicação foliar de doses de ácido bórico em pré e/ou pós-florada (fevereiro/99).

Essas diferenças entre as respostas à aplicação de B sobre a produção podem estar relacionadas com o relatado por Hu et al. (1996) sobre a diversidade de requerimento de B entre as espécies e mesmo entre os cultivares. Sabe-se que o cafeeiro possui manitol e ácido caféico, dois complexantes de B que podem determinar sua mobilidade,

e a concentração destes compostos podem variar, influenciando nas respostas de plantas de café ao B.

Os resultados de pegamento de frutos são apresentados na Figura 12, onde se observa que na média dos 40 nós avaliados as plantas tratadas sempre apresentaram maior número de flores e frutos, porém essa diferença foi constante, desde a avaliação prévia. Como foi observado no experimento em casa-de-vegetação, uma única aplicação foliar de B na pré-florada não influenciou significativamente a produção.

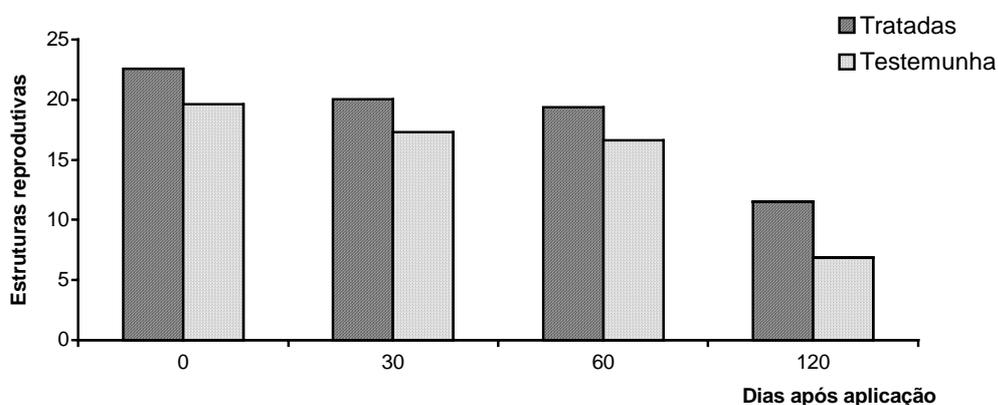


Figura 12. Número de estruturas reprodutivas (flores ou frutos) de plantas de café em segundo ano de produção (safra de baixa produção), tratadas ou não com uma única aplicação de B foliar em pré-florada.

Deve-se lembrar que as plantas utilizadas encontravam-se com deficiência de B e que a quantidade aplicada uma única vez não foi suficiente para elevar os níveis de B a valores que efetivamente implicassem em diferença. Esses fatores, provavelmente, dificultaram a observação dos efeitos descritos por Franco (1982) e Santinato et al. (1991) quanto ao pegamento de frutos de café.

4.2. Experimento 2. Boro enriquecido

Ao final da época denominada E2, os tratamentos em que o B não foi suprido em solução (1, 2, 8 e 9) apresentavam sintomas leves de deficiência de B, caracterizados por folhas menores com manchas necróticas (Figura 13). No final da época denominada E3, os tratamentos com ausência de B em solução (1, 4 e 8) apresentaram sintomas de deficiência, embora nos tratamentos em que o B esteve ausente somente durante E3 (4 e 8), os sintomas foram mais leves, enquanto que no tratamento em que a ausência persistiu desde de E2 (1), os sintomas foram mais pronunciados. A reaplicação de B em solução, nos tratamentos em deficiência em E2, permitiu o desenvolvimento normal das folhas originadas em E3 e no crescimento normal das plantas.

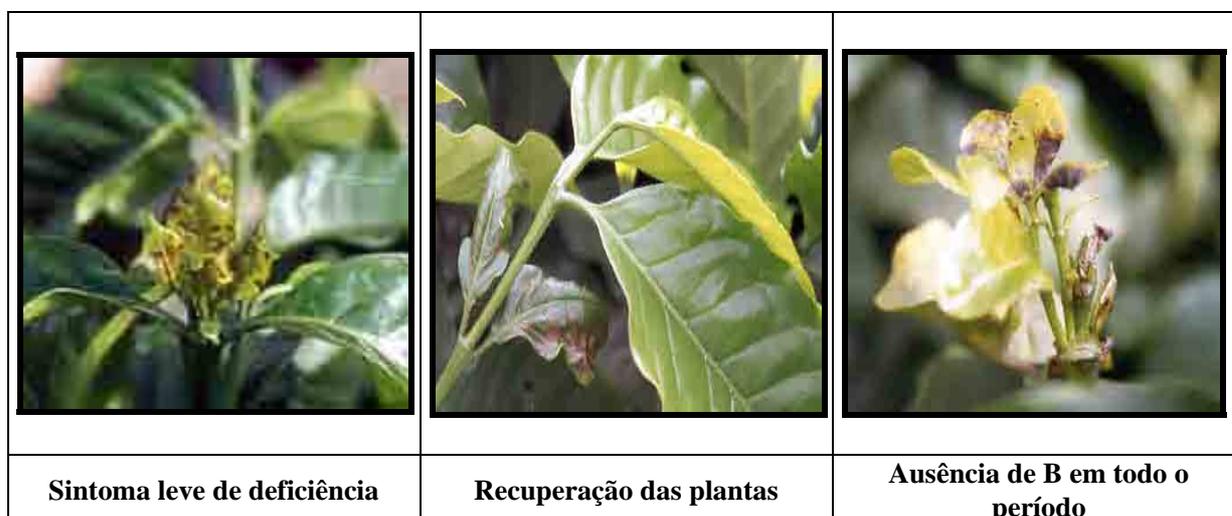


Figura 13. Sintomas de deficiência de B apresentados por plantas de café sob diferentes épocas de suprimento de B.

No Quadro 7 pode-se observar que as épocas de aplicação de B, e conseqüentemente as concentrações, não afetaram significativamente o comprimento dos ramos, o número de nós e o número de folhas no primeiro ramo produzido durante E2. Um

maior crescimento de ramo com altos teores foliares de B, como foi observado por Lima Filho & Malavolta (1998), não foi verificado nesta avaliação, pois não houve diferenças significativas entre os tratamentos, embora possa ser observado que as menores médias são as dos tratamentos sem B em solução nas duas épocas.

Os resultados do número de folhas foram semelhantes, com exceção do tratamento com ausência de B por todo o período do experimento, que apresentou, estatisticamente, um menor número de folhas, verificando-se que as menores médias foram as dos tratamentos sem B em E3.

Quadro 7 - Comprimento dos ramos, número de nós e número de folhas de plantas de café submetidas a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Amostragem realizada no primeiro ramo emitido na época E2, 140 dias após a instalação dos tratamentos em E3.

ÉPOCAS		Comp. de Ramo		Número de Nós		Número de Folhas	
E2	E3	E2	E3	E2	E3	E2	E3
- B	- B	16,8	16,0	4,6	4,2	7,6	7,5 b
B _r -B _s	¹⁰ B _s	17,4	16,3	4,5	4,3	7,7	8,4 ab
B _s	B _s	17,1	17,9	4,4	4,4	7,5	8,6 ab
¹⁰ B _s	- B	17,1	19,4	4,5	4,4	7,7	7,9 ab
B _s	¹⁰ B _s	17,0	18,1	4,5	4,4	7,6	8,5 ab
¹⁰ B _s	B _s	16,1	19,6	4,4	4,6	7,6	8,9 a
¹⁰ B _r + B _s	B _s	18,2	18,1	4,5	4,6	7,6	8,9 a
¹⁰ B _r - B _s	- B	17,0	16,6	4,5	4,3	7,2	7,8 ab
- B	¹⁰ B _s	16,9	19,7	4,6	4,4	7,8	8,5 ab
CV%		11,73	14,56	7,12	12,57	7,00	11,81

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si na coluna, pelo teste t de DMS ao nível de 5% de probabilidade.

Os efeitos da deficiência de B sobre a formação de parede celular e lignificação (Parr & Loughman, 1983) podem tornar as folhas mais novas mais sensíveis à

queda, como foi verificado pelo número de folhas em E3, no tratamento com ausência de B (Quadro 7).

Como não houve diferença significativa para o número de nós e o comprimento de ramos (Quadro 7), deduz-se que o desenvolvimento dos ramos foi normal e independente da deficiência ou do suprimento de B, de forma diferente da encontrada por Lima Filho & Malavolta (1992 e 1998).

Mesmo em condições de deficiência, que causam desarranjos estruturais na parede celular e na formação de lignina (Loomis & Durst, 1992 e Cakmak & Römheld, 1997), o ramo continuou seu desenvolvimento, formando novos nós e folhas, provavelmente seja uma forma da planta manter o número de nós para o ano seguinte e garantir a produção, sendo uma forma de preservação da espécie.

O número de folhas por nó não diferiu entre os tratamentos (Quadro 8) quando os tratamentos foram aplicados em E2, porém médias menores foram observadas nos tratamentos sem B durante E3, confirmando os resultados de queda de folhas recém formadas devido à deficiência de B, principalmente se a deficiência aparecer-se na época da frutificação do cafeeiro, e isso afetará a próxima safra pois os nós sem folhas não florescem (Rena & Maestri, 1986).

A massa do material seco das folhas por nó (Quadro 8) apresentou diferença significativa nas duas épocas, porém mais pronunciada em E2 nas plantas deficientes em B, o que também ocorreu na massa de material seco das folhas. As diferenças observadas para a massa de material seco das folhas por nó, em E3, estão mais ligadas ao menor número de folhas, pois a massa de material seco das folhas não apresentou diferença em E3.

Quadro 8 - Relações entre o número de folhas e o número de nós, massa de material seco das folhas e o número de nós e massa de material seco das folhas de cafeeiro submetidas a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Amostragem realizada no primeiro ramo emitido na época E2, 140 dias após a instalação dos tratamentos em E3.

ÉPOCAS		N. folhas / Nós		M.S. Folhas / Nós		M. S. Folhas	
E2	E3	E2	E3	E2	E3	E2	E3
- B	- B	1,65	1,80 c	0,42 c	0,56 b	0,25 c	0,31
B_r-B_s	¹⁰ B_s	1,71	1,96 a	0,49 ab	0,66 a	0,29 ab	0,34
B_s	B_s	1,70	1,95 a	0,51 a	0,66 a	0,30 ab	0,34
¹⁰ B_s	- B	1,71	1,80 c	0,50 a	0,63 ab	0,29 ab	0,35
B_s	¹⁰ B_s	1,69	1,94 a	0,48 ab	0,66 a	0,28 b	0,34
¹⁰ B_s	B_s	1,71	1,95 a	0,50 a	0,65 a	0,30 ab	0,33
¹⁰ B_r+ B_s	B_s	1,70	1,97 a	0,52 a	0,65 a	0,31 a	0,33
¹⁰ B_r- B_s	- B	1,61	1,82 bc	0,45 bc	0,61 ab	0,28 b	0,33
- B	¹⁰ B_s	1,69	1,91 ab	0,51 a	0,66 a	0,30 ab	0,34
CV%		6,72	4,02	6,62	8,56	4,46	7,77

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si na coluna, pelo teste t da DMS ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados apresentados nos Quadros 7 e 8 evidenciam a queda de folhas recém maduras e a transferência dos fotossintetatos das folhas mais velhas, seja para propiciar o surgimento de folhas novas ou para suprir os frutos em desenvolvimento, porém, segundo Rena e Maestri (1986), a maior parte do fornecimento para os frutos vêm das folhas do próprio nó do desenvolvimento dos frutos, os quais já estavam presentes em E1.

Os resultados semelhantes, observados em E3, para a massa de material seco das folhas, podem ser explicados baseados nos resultados obtidos por Sharma & Sharma (1987), que demonstraram que ocorreu aumento significativo na concentração de açúcares e amido e o engrossamento das folhas deficientes em B, o que pode ter prevenido a diminuição da massa de material seco das folhas dos tratamentos deficientes, já que Rena &

Maestri (1986) observaram o aumento da massa de material seco das folhas durante a frutificação.

A massa de material seco das folha por ramo (Quadro 9) seguiu a mesma tendência da massa de material seco das folha por nó, apresentando as mesmas diferenças significativas nas duas épocas, o que confirma a discussão realizada.

A massa de material seco dos ramos foi influenciada pela ausência de B somente na parte mais velha do ramo (E2), o que pode estar relacionado com a produção de pectina e lignina nas plantas deficientes em B (Parr & Loughman, 1983, Pilbean & Kirkby, 1983), já que, segundo Rena & Maestri (1986), os frutos podem utilizar as reservas do lenho para seu desenvolvimento e, com a deficiência de B, os teores de açúcares e mesmo a conformação celular podem estar comprometidas.

Quadro 9 - Massa de material seco das folhas por ramo, massa de material seco dos ramos e massa de material seco total dos ramos de cafeeiro submetidos a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Amostragem realizada no primeiro ramo surgido na época E2, 140 dias após a instalação dos tratamentos em E3.

ÉPOCAS		M.S. Folhas		M.S. Ramo		M. S. Total	
E2	E3	E2	E3	E2	E3	E2	E3
- B	- B	1,9 c	2,3 b	0,6 b	0,4	2,6 c	2,7 b
B_r-B_s	¹⁰ B_s	2,2 ab	2,8 a	0,7 a	0,4	2,9 ab	3,3 a
B_s	B_s	2,3 ab	2,9 a	0,7 ab	0,5	3,0 ab	3,3 a
¹⁰ B_s	- B	2,3 ab	2,7 ab	0,7 ab	0,4	3,0 ab	3,2 ab
B_s	¹⁰ B_s	2,2 abc	2,9 a	0,7 a	0,4	2,9 ab	3,3 a
¹⁰ B_s	B_s	2,2 b	3,0 a	0,7 ab	0,5	3,0 ab	3,4 a
¹⁰ B_r+ B_s	B_s	2,4 a	3,0 a	0,8 a	0,5	3,1 a	3,5 a
¹⁰ B_r- B_s	- B	2,0 bc	2,6 ab	0,7 ab	0,4	2,7 bc	3,0 ab
- B	¹⁰ B_s	2,3 a	2,9 a	0,7 a	0,5	3,1 a	3,4 a
CV%		7,90	10,52	7,18	15,41	6,70	10,44

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si na coluna, pelo teste t da DMS ao nível de 5% de probabilidade.

Como não ocorreu diferença significativa que pudesse alterar os resultados da massa de material seco total (Quadro 9), esta apresentou o mesmo comportamento da massa de material seco das folhas, de forma semelhante ao encontrado por Kouchi & Kumazawa (1975) em plantas de tomate e girassol.

Sempre que houve restrição no fornecimento de B em solução, as plantas apresentaram teores menores desse nutriente nesse período (Quadro 10). Segundo Malavolta (1993), os teores adequados de B em folhas de cafeeiro (3^o e 4^o pares) estão entre 59 e 80 mg kg⁻¹, sendo considerado excessivos valores acima de 90 mg kg⁻¹. Franco & Gallo (1976) relataram que o teor foliar de B, quando ocorre o aparecimento de sintomas de toxidez, estavam ao redor de 200 mg kg⁻¹. Sintomas leves de toxidez de B não apresentaram efeitos adversos sobre o crescimento da planta de café. Como os teores em E2 apresentaram-se acima do excessivo, mas abaixo do limite para a apresentação de sintomas, foi diminuída a quantidade de B suprida durante E3, motivo pelo qual os valores encontrados em E3 foram menores.

Como também houve diminuição na concentração de B foliar nos tratamentos com ausência de B em E3, as diferenças entre os tratamentos foram semelhantes às encontradas em E2. Os resultados apresentados demonstram que somente uma aplicação foliar de B, sem suprimento via solução, aumentou a concentração foliar de B, porém sem diferença significativa em relação às plantas deficientes. Quando o B foi suprimido da solução em E2, houve um declínio vertiginoso no teor do nutriente nas folhas em E3. Entretanto, esse teor ainda foi superior ao da testemunha, evidenciando a translocação do B aplicado anteriormente para as partes mais novas. Esse B poderia estar no simplasto, ligado a algum açúcar, provavelmente o manitol (Brown & Shelp, 1997) ou ao ácido caféico, em quantidade razoável

capaz de suprir parcialmente as parte mais novas em E3, já que a concentração de B em E2 foi considerada alta (Hu & Brown, 1994).

Quadro 10 - Teores de B (mg kg^{-1}) nas folhas e nos ramos e de cafeeiro submetidos a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Amostragem realizada no primeiro ramo surgido na época E2, 140 dias após a instalação dos tratamentos em E3.

ÉPOCAS		B em Folhas		B em Ramos	
E2	E3	E2	E3	E2	E3
- B	- B	18 f A	14 d A	14 f	17 e
$\text{B}_r\text{-B}_s$	$^{10}\text{B}_s$	97 d A	98 ab A	20 cd	26 bcd
B_s	B_s	153 b A	106 a B	24 abc	27 bc
$^{10}\text{B}_s$	- B	116 c A	37 c B	18 de	24 cd
B_s	$^{10}\text{B}_s$	171 a A	103 ab B	20 cd	23 d
$^{10}\text{B}_s$	B_s	165 a A	96 ab B	22 bc	25 bcd
$^{10}\text{B}_r + \text{B}_s$	B_s	167 a A	103 ab B	26 a	29 ab
$^{10}\text{B}_r - \text{B}_s$	- B	23 f A	15 d A	16 ef	15 e
- B	$^{10}\text{B}_s$	78 e B	95 b A	25 ab	31 a
CV T		5,03		11,40	11,20
CV E		7,34			

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na coluna, e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste t da DMS ao nível de 5% de probabilidade.

Por outro lado, observa-se que nos tratamentos com ausência de B em E2 e com reaplicação em solução em E3, houve acúmulo do B aplicado durante E3 nas partes mais velhas, em função do transporte via corrente transpiratória (Oertli, 1994). A aplicação foliar em E2, com suprimento na solução em E3, propiciou maior teor foliar de B do que somente a aplicação na solução em E3 com ausência em E2, evidenciando que houve absorção do B aplicado via foliar.

Não se observaram diferenças entre as épocas para os teores de B nos ramos, sendo que, mesmo com a diminuição no B aplicado na solução, o que ocasionou a

diminuição no teor de B foliar, o teor de B nos ramos em E3 foram maiores, em média, do que os teores em E2.

As diferenças apresentadas entre os tratamentos para teor de B nos ramos (Quadro 10) não estão relacionadas com a diluição, já que não ocorreram diferenças entre a massa de material seco dos ramos entre tratamentos. A ausência de B em E3 apresentou relação direta com o teor do nutriente em E2, provavelmente pela pequena disponibilidade de B para as ligações com lignina (Cakmak & Römheld, 1997), que é abundante à medida que o ramo amadurece, haja vista que quando o B é suprido posteriormente, os teores em E2 também são superiores.

A quantidade de B contido nas folhas (Quadro 11) apresentou a mesma tendência dos resultados obtidos para os teores foliares de B, já que os menores resultados da massa de material seco das folhas foram para os tratamentos com menor aplicação de B.

A aplicação foliar de B, sem o suprimento na solução foi 35% maior em E2 e 20% em E3 do que a ausência total de B, porém não houve diferença significativa entre ambas, enquanto que a aplicação foliar mais o suprimento na solução apresentou a maior média dos tratamentos. Esses resultados indicam que ocorreu absorção foliar, e que o B aplicado via foliar, em condições de deficiência pode ter sido translocado para suprir outras regiões, pois, segundo o observado por Shelp (1988), em plantas de brócolis, que o B é retranslocado, para as folhas em desenvolvimento e os frutos, quando as plantas encontram-se em condições de deficiência, e que o floema, bem mais que o xilema, é a fonte predominante de B para os tecidos novos (Shelp, 1993).

Quadro 11 - Quantidades de B nas folhas, nos ramos e total por época em cafeeiro submetido a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Amostragem realizada no primeiro ramo surgido na época E2, 140 dias após a instalação dos tratamentos em E3.

ÉPOCAS		B Folhas		B Ramos		B Total	
E2	E3	E2	E3	E2	E3	E2	E3
- B	- B	35 f A	32 c A	9,3 f	7,1 d	44 e A	39 c A
B_r-B_s	¹⁰ B_s	215 d A	280 a A	15,0 cd	11,1 c	230 d B	291 a A
B_s	B_s	346 b A	303 a B	16,7 bc	12,4 bc	363 b A	316 a B
¹⁰ B_s	- B	261 c A	101 b B	13,0 de	10,7 c	274 c A	111 b B
B_s	¹⁰ B_s	369 ab A	294 a B	15,5 cd	10,2 c	384 b A	304 a B
¹⁰ B_s	B_s	369 ab A	286 a B	15,9 c	12,2 bc	384 b A	298 a B
¹⁰ B_r+ B_s	B_s	394 a A	304 a B	19,6 a	14,1 a	414 a A	318 a B
¹⁰ B_r- B_s	- B	47 f A	39 c A	11,6 ef	6,6 d	59 e A	45 c A
- B	¹⁰ B_s	182 e B	278 a A	18,7 ab	15,5 a	201 d B	293 a A
CV T		8,48		11,79		8,03	
CV E		8,41				8,11	

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na coluna, e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste t da DMS ao nível de 5% de probabilidade.

Não houve diferenças entre as épocas para a quantidade de B contido nos ramos (Quadro 11), o que também ocorreu para o teor de B, confirmando que esses os resultados são dependentes do teor de B, uma vez que a matéria seca de ramos não apresentou diferenças entre os tratamentos que receberam B em E2 e/ou em E3. As menores quantidades de B nos ramos oriundos de E3, é devida a maior massa de material seco nessa época, já que o teor de B no ramo foi superior em E3.

A análise de B nas folhas (Quadro 11) também demonstrou que a ausência do nutriente em E3 resultou em quantidade menor em E2 em relação aos tratamentos com suprimento constante, evidenciando que o B absorvido da solução é transportado para todas as partes da planta através da coluna de transpiração (Oertli, 1994), porém em taxas menores para as partes mais velhas do que para as partes mais novas.

Foi observada a translocação de B aplicado em E2 para as folhas originadas em E3 também quando o B não foi mais suprido. Esse fato é comprovado com a utilização do isótopo estável de B que demonstrou que mais de 28% do B presente em folhas de E3 foi proveniente do aplicado em E2 (Quadro 12).

Quadro 12 - Bpff (%) (Quantidade de ^{10}B proveniente do fertilizante) nas folhas e ramos de cafeeiro submetidos a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Amostragem realizada no primeiro ramo surgido na época E2, 140 dias após a instalação dos tratamentos em E3.

ÉPOCAS		Bdff Folhas		Bdff Ramos	
E2	E3	E2	E3	E2	E3
- B	- B	0,0 f A	0,0 f A	0,0 e A	0,0 f A
$^{10}\text{B}_r\text{-B}_s$	$^{10}\text{B}_s$	40,7 b B	47,8 a A	14,8 b B	26,1 a A
B_s	B_s	1,0 f A	0,8 f A	0,6 e A	1,4 def A
$^{10}\text{B}_s$	- B	47,6 a A	28,7 c B	18,5 a A	12,9 c B
B_s	$^{10}\text{B}_s$	23,0 d B	43,6 b A	16,6 b B	25,3 a A
$^{10}\text{B}_s$	B_s	32,0 c A	8,8 d B	11,6 c A	5,1 d B
$^{10}\text{B}_r+\text{B}_s$	B_s	2,0 f A	0,7 f A	0,3 e A	0,5 ef A
$^{10}\text{B}_r\text{-B}_s$	- B	11,5 e A	5,7 e B	6,0 d A	5,8 de A
- B	$^{10}\text{B}_s$	40,8 b B	49,0 a A	12,0 c B	24,4 b A
CV T		6,62		7,59	
CV E		8,21		16,55	

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na coluna, e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste t da DMS ao nível de 5% de probabilidade.

No Quadro 12 são apresentados os resultados de Bdff, que é a quantidade, do B proveniente do fertilizante enriquecido, em porcentagem. Os resultados dos tratamentos com B sem aplicação isotópica, para as folhas e os ramos, variaram entre 0,6 a 1,4%, que provavelmente está ligado ao fato da variação que pode existir quanto à abundância natural dos minerais de B (Power & Woods, 1997). Foi verificado, no tratamento sem aplicação de B, uma variação entre as diferentes partes analisadas dos ramos, que está

relacionado com o fracionamento celular citado por Marentes et al. (1997), porém esta diferença não aparece no quadro de resultados pois foi utilizado na fórmula a abundância de cada porção analisada do tratamento sem aplicação de B, como controle.

As maiores médias de Bdff (%) em folhas foram encontradas nas épocas em que o ácido bórico enriquecido foi aplicado, independentemente do modo de aplicação, com exceção da aplicação foliar de ^{10}B e B na solução em E2, onde não foi observada diferença entre as épocas devido ao efeito de diluição do ^{10}B . A quantidade de B na solução foi muito maior do que a aplicada via foliar, não havendo diferenças entre tratamentos sem aplicação isotópica.

A diluição isotópica foi observada também com a aplicação de ^{10}B em solução em E2 e B em E3, pois o valor de Bdff, na época de aplicação na solução, foi de 32%, enquanto que nos outros tratamentos esses valores foram superiores a 43% na época de aplicação.

O não suprimento de B na solução tornou mais evidente o ^{10}B absorvido através da aplicação via foliar e sua translocação para folhas em E3, apesar das médias serem inferiores aos tratamentos com ^{10}B na solução, evidenciando o relatado por Xie et al. (1992), de que o B é facilmente translocado das folhas fotossinteticamente ativas para os pontos de crescimento. Essa translocação é explicada graças às descobertas apresentadas por Brown & Shelp (1997) de que o B forma complexos com manitol nas plantas de café, e por Hu et al. (1997), que demonstraram a mobilidade desses compostos. Voltando-se ao Quadro 10, o valor de B translocado de folhas de E2 para E3 corresponde à cerca de 11 mg kg^{-1} de B.

Quando a aplicação de ^{10}B foi feita na solução em E2, sendo suprimido em E3, nota-se a grande quantidade do isótopo nas folhas produzidas durante E3. O B

translocado é aquele que está ligado aos polióis, que no caso do café é o manitol (Brown & Shelp, 1997), pois em condições de excesso de B, grande parte encontra-se livre no simplasto (Matoh, 1997), já que quase todo o B do floema está na forma de complexo B-manitol (Hu & Brown, 1997).

Os resultados dos ramos seguiram os obtidos nas folhas, com valores menores, porém confirmando que o ^{10}B aplicado em E2 caminhou para as partes geradas em E3. Nota-se que não houve diferenças entre épocas para os tratamentos com ^{10}B foliar, sendo que os valores encontrados nos ramos em E3 não foram muito diferentes dos encontrados nas folhas em E3, o que pode ser devido a quantidade de ^{10}B no floema, que não é afetado quando as concentrações nos órgãos drenos estão abaixo da ideal (Shelp, 1988).

Do Quadro 13 ao Quadro 18 são apresentados os resultados obtidos na avaliação final do experimento, realizada quando as plantas apresentavam frutos em estágio de maturação. Como a diferença entre coletas é de 20 dias, muitos dos resultados se repetem, e, portanto, não são discutidos novamente.

Os resultados da massa de material seco das folhas e dos ramos na avaliação final (Quadro 13) seguiram as mesmas tendências da avaliação prévia, com os efeitos pouco mais pronunciados mas ainda sem apresentar diferenças significativas entre as épocas. Não foram apresentadas as diferenças entre as épocas para a massa de material seco das folhas e dos ramos, pois, para todos os tratamentos, a ordem foi $\text{E3} > \text{E2} > \text{E1}$ para as folhas e $\text{E1} > \text{E3} > \text{E2}$ para os ramos, devido ao intervalo entre as épocas.

Como não foi feita a contagem de folhas nesta avaliação, mas baseando-se nos resultados da amostragem prévia, pode-se inferir que a menor massa de material seco das folhas (Quadro 13) encontrada em E1 no tratamento com omissão de B,

pode ter ocorrido tanto pela queda de folhas quanto pela exportação de carboidratos ligados ao B para suprir as folhas mais novas e mesmo os frutos, os quais são drenos preferenciais e se desenvolveram em E1.

Quadro 13 - Massa de material seco nas folhas e nos ramos de cafeeiro submetidos a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Avaliação final realizada aos 250 dias após início dos tratamentos.

ÉPOCAS		Folhas (g)			Ramos (g)		
E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3
- B	- B	8,3 b	28,4 b	90,2 b	75,1	19,4 a	21,1 b
B _r -B _s	¹⁰ B _s	13,4 a	35,0 a	104,8 a	72,6	17,0 ab	25,0 ab
B _s	B _s	13,4 a	35,1 a	95,3 ab	63,8	15,5 b	25,0 ab
¹⁰ B _s	- B	13,2 a	34,2 a	90,9 b	63,5	16,9 ab	22,0 ab
B _s	¹⁰ B _s	13,2 a	37,0 a	93,2 b	64,7	15,9 b	25,1 ab
¹⁰ B _s	B _s	13,5 a	35,0 a	94,2 ab	65,9	17,2 a	25,2 ab
¹⁰ B _r + B _s	B _s	13,0 a	34,1 a	97,2 ab	72,1	17,2 a	26,6 a
¹⁰ B _r - B _s	- B	11,8 a	32,3 ab	99,1 ab	69,9	14,8 b	24,0 ab
- B	¹⁰ B _s	13,4 a	34,5 a	100,5 ab	75,3	16,6 b	24,4 ab
CV T		16,80	11,32	8,01	12,38	10,77	14,01

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste t da DMS ao nível de 5% de probabilidade.

Essa menor produção de material seco foi constante em todas as épocas analisadas para o tratamento com omissão de B. Esses resultados concordam com os relatados por Lima Filho e Malavolta (1998) e devem estar relacionados com a necessidade dos frutos de fornecimento contínuo de açúcares e as folhas acompanhantes dos frutos serem as suas principais fornecedoras (Rena & Maestri, 1986).

A massa de material seco dos ramos não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos na época E1, demonstrando que a deficiência de B nas épocas posteriores não implica em menor aumento de massa de material seco da parte mais velha do ramo. As diferenças ocorridas em E2 não têm correlação com os tratamentos

utilizados, sendo que a ausência de B no período experimental afetou somente a massa de material seco dos ramos em E3, diferindo do tratamento com B via foliar e em solução, podendo-se inferir que a deficiência de B afetou somente a parte mais nova do ramo, semelhantemente ao relatado por Lima Filho & Malavolta (1998). Embora não tenha apresentado diferenças significativas mais pronunciadas, observa-se uma leve correlação entre teor foliar de B e a massa de material seco da parte mais nova dos ramos, sendo oposto ao encontrado por Lima Filho & Malavolta (1992).

Quando se soma a massa de material seco das folhas e dos ramos (Quadro 14), denominada como massa de material seco da parte aérea, sem considerar-se os frutos, somente houve diferenças entre as médias dos tratamentos em E3, demonstrando que a avaliação dessa variável isoladamente, sem se considerar os componentes de produção tais como número de folhas, massa do material seco das folhas, número de nós e suas relações, pode não demonstrar uma correlação com o teor de B.

Através desses resultados, pode-se aceitar a afirmação de Lima Filho & Malavolta (1998) de que a massa de material seco do material vegetal não é um parâmetro adequado para definir os níveis críticos de B.

A produção de massa de material seco da coleta final (Quadro 14) somente foi afetada significativamente em E3, quando o B foi suprimido na solução. Entretanto, a adubação via foliar em E2 preveniu esse efeito, e assim a deficiência de B em E2 não prejudicou o crescimento vegetativo. Na avaliação prévia (Quadro 9) os resultados em E3 foram similares, contudo, diferenças significativas foram encontradas em E2, sendo que a aplicação via foliar minimizou, mas não foi suficiente para evitar o efeito do B sobre o crescimento vegetativo apresentado em E2.

Quadro 14 - Massa de material seco (g) da parte aérea, dos frutos, das raízes e do total de cafeeiro submetido a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Avaliação final realizada aos 250 dias após início dos tratamentos.

ÉPOCAS		M. S. Parte Aérea			Frutos	Raízes	Total
E2	E3	E1	E2	E3			
- B	- B	83,4	48,0	111 c	11,7 d	103 b	358 d
B _f -B _s	¹⁰ B _s	86,1	52,0	129 a	35,1 ab	126 ab	429 a
B _s	B _s	77,3	50,6	120 ab	42,2 a	129 ab	420 abc
¹⁰ B _s	- B	76,8	51,1	113 bc	22,3 c	122 ab	386 cd
B _s	¹⁰ B _s	78,0	53,0	118 abc	39,0 ab	127 ab	416 abc
¹⁰ B _s	B _s	79,5	52,3	119 abc	38,3 ab	132 ab	421 abc
¹⁰ B _f + B _s	B _s	85,2	51,4	123 abc	32,4 b	137 a	430 a
¹⁰ B _f - B _s	- B	81,7	47,2	123 abc	11,9 d	127 ab	391 bcd
- B	¹⁰ B _s	88,7	51,2	125 ab	34,3 ab	127 ab	427 ab
CV T		11,38	9,57	7,37	19,47	15,67	6,24

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si na coluna pelo teste t da DMS ao nível de 5% de probabilidade.

A menor massa de material seco da parte aérea (Quadro 14) observada nos tratamentos com ausência de B em E3, talvez tenha ocorrido em função dos frutos se constituírem em dreno preferencial nessa época e, por causa da deficiência de B, o transporte de açúcares para as folhas mais novas possa ter sido limitado, levando-se em consideração a função do B no transporte de açúcares (Parr & Loughman, 1983).

A massa de material seco dos frutos (Quadro 14) esteve diretamente relacionada com o suprimento de B, assim como foi relatado por Santinato et al. (1991 e 1994), sendo que a menor massa de material seco dos frutos, encontrada em deficiência de B, pode ser resultado do efeito do B no pegamento de frutos e enchimento de grãos, citados por Franco (1982). Ressalta-se que uma aplicação via foliar de B em pré-florada, nesse caso, não preveniu o efeito da deficiência, indicando que os frutos necessitam de um fornecimento

contínuo de B, conforme relatado por (Catani et al., 1967a), maior do que para o necessário para o crescimento vegetativo, o que é confirmado pelas produções maiores obtidas nos tratamentos com B contínuo e com o fornecimento em E3, mesmo quando o B não foi suprido em E2.

Deduz-se, então, que a ligação do B com a produção pode ser no pegamento da florada, no enchimento de frutos através do transporte de carboidratos, na retenção dos frutos até a maturação ou mesmo pela manutenção das folhas para fornecimento de assimilados para os frutos. Através dos resultados obtidos, pode-se inferir que a ocorrência de deficiência leve no florescimento não afeta a produção significativamente, se houver o fornecimento de B durante o desenvolvimento do fruto.

A raiz é o primeiro órgão a ser afetado pela deficiência de B (Dell & Huang, 1997). Em algodoeiro, Rosolem & Costa (2000) observaram a recuperação completa do sistema radicular com o re-suprimento de B em solução, o que parece ter ocorrido também no presente caso. Entretanto, o sistema radicular do cafeeiro parece ser menos afetado que de outras plantas, pois mesmo com a ausência de B em E3, a massa de material seco das raízes (Quadro 14) foi semelhante ao tratamento sem deficiência, o que realmente não apresenta uma boa correlação com o teor de B foliar (Lima Filho & Malavolta, 1992).

No Quadro 15 verifica-se a queda nas concentrações foliares de B nos tratamentos com presença constante do nutriente devido à diminuição da quantidade suprida em E3 pois os valores alcançados em E2 eram altos, como já justificado. Outro fator que pode ter auxiliado na diminuição dos teores foliares foi a coincidência com o período de enchimento dos frutos, assim como foi relatado por Marubayashi et al. (1994).

Houve correlação entre o B aplicado na solução e os teores foliares encontrados em cada época, observando-se que a aplicação de B implicou em maiores teores também na época imediatamente anterior, evidenciando o transporte e a distribuição primária através da coluna de transpiração (Oertli, 1994).

O suprimento de B em E2 e sua omissão em E3 apresentou diminuição no teor em E2 e teor maior que o ocorrido na deficiência em E3, podendo-se inferir que houve translocação do B absorvido em E2 para as partes mais novas da planta. Esse fato é coerente com o relatado em algodão por Xie et al. (1992), de que o B não é facilmente translocado de folhas velhas, que no caso seria de E1, mas pode ser translocado de folhas fotossinteticamente ativas, tais como as encontradas em E2. Hu & Brown (1994) citam que somente 64% do B, em condições de toxidez, encontram-se ligados na parede celular, deixando uma grande parte do B absorvido livre para ser translocada, se for complexada por algum poliol.

Quadro 15 - Teores de B e quantidades de B (mg) nas folhas de cafeeiro submetido a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Avaliação final realizada aos 250 dias após início dos tratamentos.

ÉPOCA		B (mg kg ⁻¹)			B (mg)		
E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3
- B	- B	19,4 f A	14,4 e A	11,8 d A	0,04 d B	0,10 c AB	0,26 e A
B_f-B_s	¹⁰ B_s	53,8 e B	92,4 c A	84,8 ab A	0,73 bcd C	3,23 b B	8,91 a A
B_s	B_s	116,4 c B	134,1 b A	76,0 b C	1,55 ab C	4,71 a B	7,25 c A
¹⁰ B_s	- B	99,0 d A	86,3 cd B	27,0 c C	1,31 abc B	2,96 b A	2,42 d A
B_s	¹⁰ B_s	127,1 b B	143,4 ab A	90,8 a C	1,65 a C	5,17 a B	8,44 ab A
¹⁰ B_s	B_s	124,5 bc B	142,4 ab A	85,7 a C	1,68 a C	5,00 a B	8,05 bc A
¹⁰ B_f+ B_s	B_s	138,2 a A	146,3 a A	87,2 a B	1,77 a C	4,94 a B	8,38 ab A
¹⁰ B_f- B_s	- B	26,7 f A	16,6 e B	13,0 d B	0,32 d B	0,54 c AB	1,29 e A
- B	¹⁰ B_s	46,5 e B	79,9 d A	86,7 a A	0,59 cd C	2,78 b B	8,71 ab A
CV T		8,62			10,07		
CV E		8,22			16,81		

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na coluna, e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste t da DMS ao nível de 5% de probabilidade.

O único tratamento que não apresentou diferenças entre as épocas foi o de deficiência de B, enquanto que a aplicação foliar sem suprimento na solução foi suficiente para propiciar diferença entre as épocas. Porém a ausência de B na solução, mesmo com o fornecimento foliar, não foi suficiente para ocasionar diferença significativa com a ausência total do nutriente.

A ausência de B na solução em E2, independentemente da aplicação foliar, com o re-suprimento em E3 implicou em aumento na concentração do nutriente em E1, suficiente para ser maior que o do tratamento sem B, mas ainda inferior aos outros tratamentos. Isso ocorreu porque as folhas produzidas em E1 estavam maduras, portanto com crescimento definido. Assim o maior aumento deu-se nas folhas das outras épocas, entre as quais não ocorreu diferença, por ainda estarem em crescimento e sofrerem o efeito de diluição.

Embora os teores foliares de B sejam maiores em E2, a maior quantidade de B presente nas folhas (Quadro 15) foi observada em E3, independentemente do tratamento, pois nessa época a massa de material seco das folhas também foi maior do que nas outras. Entre as épocas, as maiores quantidades do nutriente foram observadas na aplicação do B, sendo a aplicação foliar insuficiente para diferir do tratamento sem B. Os tratamentos com B contínuo apresentaram maior quantidade de B.

Pelos resultados apresentados, observa-se uma íntima relação entre a massa de material seco e a quantidade de B presentes nas folhas.

O teor de B total nos ramos e a quantidade de B absorvido (Quadro 16), não demonstraram uma tendência lógica nos resultados, tornando difícil a discussão, de modo semelhante ao observado na avaliação prévia (Quadro 9).

Quadro 16 - Teores de B e quantidades de B (mg) nos ramos de cafeeiro submetidos a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico.

ÉPOCA		B (mg kg ⁻¹)			B (mg)		
E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3
- B	- B	17,1 abc A	12,5 c B	13,3 b AB	1,28 a A	0,24 cd B	0,28 d B
B _f -B _s	¹⁰ B _s	17,3 abc B	16,0 c B	21,6 a A	1,26 a A	0,27 bcd C	0,72 a B
B _s	B _s	21,0 a A	14,0 c B	14,1 b B	1,35 a A	0,20 d C	0,35 d B
¹⁰ B _s	- B	17,2 abc B	25,2 b A	24,3 a A	1,05 b A	0,43 a B	0,53 c B
B _s	¹⁰ B _s	16,1 bc C	30,7 a A	23,8 a B	1,03 b A	0,47 a B	0,53 bc B
¹⁰ B _s	B _s	18,4 ab B	25,9 b A	21,6 a AB	1,21 a A	0,44 a B	0,54 bc B
¹⁰ B _f + B _s	B _s	16,9 abc B	23,1 b A	15,0 b B	1,21 a A	0,40 ab B	0,42 cd B
¹⁰ B _f - B _s	- B	13,4 c B	24,2 b A	15,1 b B	0,94 b A	0,34 abcd B	0,36 d B
- B	¹⁰ B _s	17,0 abc B	23,2 b A	24,7 a A	1,29 a A	0,39 abc C	0,68 ab B
CV T		9,45 %			8,48		
CV E		15,53 %			15,40		

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na coluna, e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste t da DMS ao nível de 5% de probabilidade.

Enquanto a quantidade de B nas folhas foi maior na época E3, a maior quantidade de B nos ramos foi observada em E1, devido a maior massa de material seco dos ramos nesta época.

No Quadro 17, verifica-se que os valores encontrados de quantidade de isótopo proveniente do fertilizante (Bdff) aplicado via foliar são próximos dos discutidos na avaliação prévia apresentados no Quadro 12. As maiores quantidades de B recuperado foram encontradas na época em que o isótopo foi aplicado, com exceção da aplicação de ^{10}B em E2 e B em E3 via solução, em que a maior quantidade recuperada de B foi em E1, devido ao transporte via coluna de transpiração, mesmo para as partes mais velhas da planta, e posterior diluição isotópica em E2.

Quadro 17 - Quantidades de ^{10}B proveniente do fertilizante (Bdff - %) nas folhas e nos ramos de cafeeiro submetidos a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Avaliação final realizada aos 250 dias após início dos tratamentos.

ÉPOCAS		Bdff (%) Folhas			Bdff (%) Ramos		
E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3
- B	- B	0,0 h A	0,0 h A	0,0 g A	0,0 g A	0,0 f A	0,0 f A
$\text{B}_f\text{-B}_s$	$^{10}\text{B}_s$	23,8 c C	39,0 c B	46,8 a A	21,0 a C	23,3 a B	31,3 a A
B_s	B_s	0,3 gh A	2,2 g A	2,0 f A	0,0 g A	0,0 f A	0,4 f A
$^{10}\text{B}_s$	- B	43,8 a B	47,6 a A	22,2 c C	14,5 bc B	20,0 b A	14,8 d B
B_s	$^{10}\text{B}_s$	5,5 f C	20,3 e B	38,9 b A	13,5 c B	9,5 d C	25,0 b A
$^{10}\text{B}_s$	B_s	38,7 b A	39,8 d B	7,1 d C	10,8 d B	13,3 c A	3,5 e C
$^{10}\text{B}_f\text{+ B}_s$	B_s	2,2 g A	2,7 g A	2,0 f A	2,6 f A	1,9 f A	1,1 f A
$^{10}\text{B}_f\text{- B}_s$	- B	15,3 e A	10,6 f B	5,0 e C	5,5 e A	6,6 e A	4,8 e A
- B	$^{10}\text{B}_s$	20,8 d C	42,8 b B	46,6 a A	16,5 b B	18,4 b B	21,1 c A
CV T			7,20		9,51		
CV E			6,86		14,49		

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na coluna, e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste t da DMS ao nível de 5% de probabilidade.

Já no tratamento com B em E2 e ^{10}B em E3, na solução, a resposta foi exatamente contrária, apresentando E1 como a menor quantidade de B proveniente da aplicação em E3, provando que o B aplicado na solução e absorvido do é muito pouco dirigido às folhas mais velhas, sendo preferencialmente disponibilizado para as folhas novas e recentemente maduras. Fato esse comprovado ao observar-se que a aplicação de ^{10}B , em todos os tratamentos, implicou em um aumento expressivo de B recuperado na época imediatamente anterior.

A translocação do B em cafeeiro fica evidente ao se verificar os tratamentos em que foi aplicado isótopo em E2 e não foi suprido B em E3, independente se a aplicação foi via foliar ou na solução.

A aplicação foliar do isótopo não foi suficiente para elevar a Bdff a níveis do aplicado na solução, mas foi suficiente para demonstrar que, mesmo em condições de deficiência, já que não houve diferença dos teores foliares com a ausência de B (Quadro 15), o B transloca-se da parte mais velha para pontos de crescimento, embora a quantidade seja muito pequena nessas condições, resultados semelhantes aos relatados por Shelp (1988) em plantas de brócolis.

Quantidades maiores de nutriente translocado puderam ser observadas em condições de excesso de B, já que quando o isótopo foi aplicado via solução em E2, a quantidade recuperada em E3 ficou ao redor de 6 mg kg^{-1} , sem levar em consideração a parte translocada para os frutos, já que, segundo Xie et al. (1992), durante o crescimento reprodutivo, o nutriente é prioritariamente translocado para frutos e folhas acompanhantes.

Verifica-se que nos tratamentos sem aplicação isotópica, o tratamento com B contínuo na solução apresentou maior Bdff nas folhas, o que pode estar relacionado

com o fracionamento isotópico citado por Marentes et al. (1997), pois não foram verificadas diferenças significativas, em Bdff nos ramos, entre os tratamentos com presença ou ausência de B.

As maiores quantidades de B recuperadas nos ramos (Quadro 17) foram encontradas nas épocas em que o isótopo foi aplicado, sem apresentar aumento na época imediatamente anterior, que foi observado nas folhas. Verifica-se que a aplicação de B, seja antes ou depois da utilização do isótopo, implicou em efeito de diluição, independente do tratamento aplicado.

Houve correlação positiva entre o fornecimento de B em E3 e o teor de B nos frutos (Quadro 18), sendo o teor do nutriente independente do suprimento em E2, demonstrando a prioridade de dreno dos frutos em relação ao crescimento vegetativo, como já foi observado em outros resultados e também por Xie et al. (1992) em algodão. Observa-se que ocorreu correlação positiva também com a produção de material seco dos frutos (Quadro 14) e os teores foliares, concordando com o relatado por Lima Filho e Malavolta (1992) e Barros et al. (1996)

Pode-se inferir, pelos resultados, que a presença de B na época de frutificação é extremamente importante para a manutenção dos teores que, como visto, propiciaram também as maiores produções de material seco dos frutos.

A quantidade de B no fruto foi menor nos tratamentos sem suprimento de B na solução, independentemente da aplicação via foliar, demonstrando que não houve efeito de diluição e confirmando a correlação entre teor o de B foliar, no fruto e a produção de material seco. A relação do conteúdo de B entre a menor e a maior média é de mais de 7 vezes, demonstrando que há fornecimento contínuo de B para o fruto à medida que a planta é

suprida em período adequado. Como não foram coletados frutos em estágio inicial de desenvolvimento para se quantificar o B, não se pôde verificar em quantas vezes houve incremento na quantidade de B em cada situação.

Quadro 18 - Teores, quantidades de B ,por planta, e quantidades de ^{10}B proveniente do fertilizante (Bdff - %) nos frutos e raízes de cafeeiro submetido a diferentes épocas e métodos de aplicação de ácido bórico. Avaliação final realizada aos 250 dias após início dos tratamentos.

ÉPOCAS		B (mg kg ⁻¹)		B (mg)		Bdff (%)	
E2	E3	Fruto	Raiz	Fruto	Raiz	Fruto	Raiz
- B	- B	13,3 cd	14,1 c	0,03 e	0,36 c	0,0 g	0,0 f
B _f -B _s	$^{10}\text{B}_s$	25,4 b	24,2 ab	0,22 c	0,74 ab	26,3 c	18,7 a
B _s	B _s	26,5 ab	18,6 bc	0,27 ab	0,59 b	0,0 g	0,0 f
$^{10}\text{B}_s$	- B	18,5 c	24,3 a	0,10 d	0,74 ab	19,2 d	12,0 c
B _s	$^{10}\text{B}_s$	25,6 ab	21,9 ab	0,25 bc	0,69 b	39,6 b	14,8 b
$^{10}\text{B}_s$	B _s	31,2 ab	22,0 ab	0,29 a	0,72 ab	7,9 e	7,4 d
$^{10}\text{B}_{f+}$ B _s	B _s	31,6 a	21,7 ab	0,25 abc	0,74 ab	1,3 fg	0,9 f
$^{10}\text{B}_f$ - B _s	- B	12,1 d	13,4 c	0,03 e	0,42 c	2,4 f	4,3 e
- B	$^{10}\text{B}_s$	25,9 ab	26,7 a	0,21 c	0,85 a	33,1 a	17,7 a
CV %		17,62	18,60	17,32	16,24	9,24	15,13

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na coluna, e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste t da DMS ao nível de 5% de probabilidade.

O teor de B nas raízes foi maior para os tratamentos com B em E3, com exceção do tratamento de suprimento de B contínuo, provavelmente por algum problema de metodologia de avaliação, principalmente na lavagem das raízes, o que pode ter lavado o B presente na apoplasto (Matoh, 1997), interferindo no resultado final. Os teores não afetaram a quantidade de B presente nas raízes, que apresentou o mesmo comportamento do teor, já que o material seco somente foi inferior para o tratamento deficiente em B (Quadro 14).

A aplicação isotópica em E3 propiciou as maiores quantidades de B recuperado nos frutos, demonstrando que o transporte de B não ocorreu unicamente via coluna

de transpiração, haja vista que a transpiração nos frutos é insignificante, confirmando a sugestão de Shelp (1993) de que o floema, bem mais do que o xilema, seja a fonte predominante de B para os tecidos drenos.

Cerca de 4% do B presente nos frutos foi proveniente do ^{10}B aplicado no tratamento com B via foliar em E2, sem suprimento de B em solução, o que confirma a translocação de B absorvido para frutos em desenvolvimento, como foi relatado por (Shu et al., 1993) em pessegueiro, mesmo em condições de deficiência. Esse valor está dentro dos limites de B que não estão ligados a parede celular, portanto livre para ser translocados se for complexado com algum poliol (Matoh, 1992).

A presença de 5% do B presente na raiz como proveniente da aplicação via foliar em pré-florada, no tratamento sem suprimento do nutriente em solução, foi outro fator importante observado neste experimento sobre a translocação de B em cafeeiro, como encontrado por Oertli (1993) em plantas de tomate e Shelp et al. (1996) com plantas de brócolis.

4.3. Experimento 3. Pincelamento de ácido bórico enriquecido

Os resultados obtidos nas avaliações deste experimento não foram submetidos à análise estatística, pois foi utilizado somente um tratamento para determinar o caminhamento do B aplicado no decorrer do desenvolvimento dos frutos.

Observa-se na Figura 14 que não houve alteração no padrão de teor de B nas folhas, como já foi mencionado no experimento em campo (Figura 7), nas avaliações realizadas, e que as plantas, mesmo no decorrer do experimento, encontraram-se em níveis considerados baixos para cafeeiro (Malavolta, 1993).

Os teores mais elevados tiveram correlação com a época de chuvas, sendo que a avaliação de 120 dias após a aplicação, realizada no final de janeiro, foi logo após um veranico.

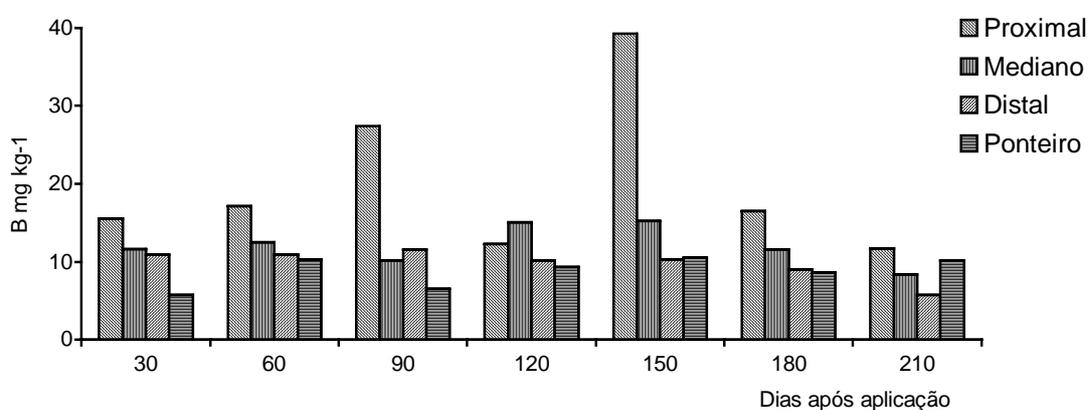


Figura 14. Teor de B nas folhas de cafeeiro pinceladas com solução de 500 mg L⁻¹ de ácido bórico enriquecido com 34,27% de ¹⁰B. Aplicação realizada em setembro de 1998.

Ao contrário do teor foliar de B, o teor nos ramos (Figura 15) foi maior na porção de ponteiro, provavelmente devido ao efeito de diluição, pois à medida que houve o crescimento dessa porção, o teor foi diminuindo, apresentando-se, porém, ainda maior do que nas outras em todas as avaliações.

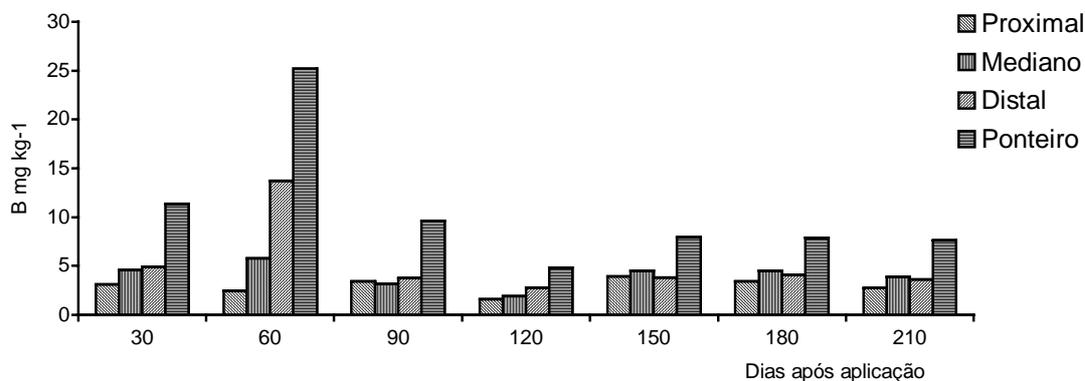


Figura 15. Teores de B nos ramos de cafeeiro com folhas pinceladas com solução de 500 mg L⁻¹ de ácido bórico enriquecido com 34,27% de ¹⁰B. Aplicação realizada em setembro de 1998.

O teor de B nos frutos (Figura 16) apresentou comportamento semelhante ao do ramo, provavelmente pelo mesmo efeito de diluição.

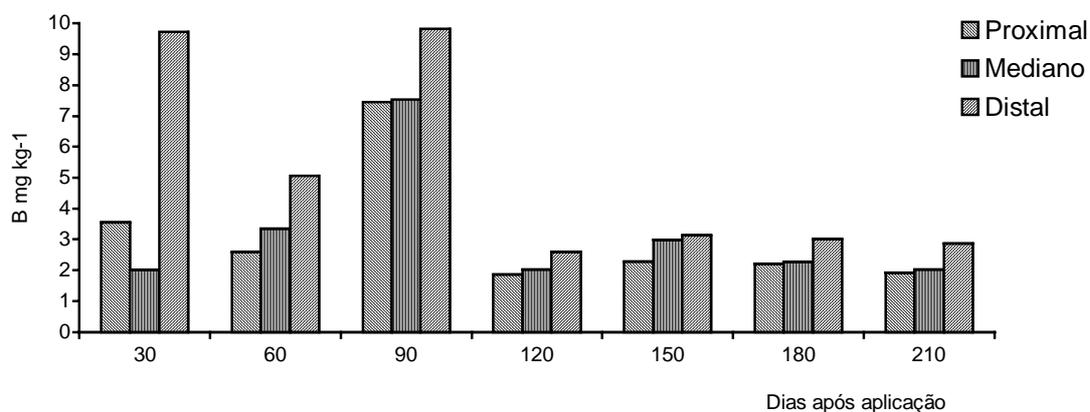


Figura 16. Teores de B nos frutos de cafeeiro com folhas pinceladas com solução de 500 mg L⁻¹ de ácido bórico enriquecido com 34,27% de ¹⁰B. Aplicação realizada em setembro de 1998.

A Figura 17 demonstra que o isótopo aplicado nas folhas persistiu por praticamente todo o período do experimento, diminuindo sua concentração seja por remobilização seja por diluição isotópica.

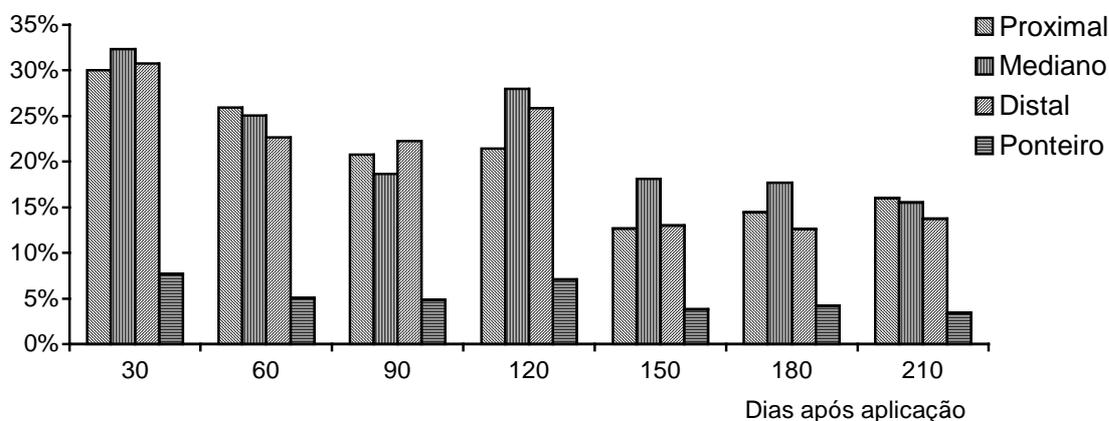


Figura 17. Recuperação isotópica do B nas folhas de cafeeiro com folhas pincladas com solução de 500 mg L^{-1} de ácido bórico enriquecido com 34,27% de ^{10}B . Aplicação realizada em setembro de 1998.

Após 30 dias da aplicação, cerca de 5% do B presente na porção de ponteiro foi proveniente do aplicado nas porções mais velhas do ramo, percentagem esta semelhante à encontrada no experimento em casa-de-vegetação sob as mesmas condições limitantes (Quadro 12).

Tanto a baixa translocação do B aplicado via foliar quanto a permanência por tão longo período podem estar relacionadas ao que foi descrito por Matoh (1992) de que 95 a 98% do B, em condições limitantes, estão ligados a parede celular, não estando na forma trocável e, portanto, não podendo ser translocada (Brown & Hu, 1994, Matsunaga & Nagata, 1995 e Hu et al., 1996).

A translocação do B aplicado nas folhas pode ser observada na Figura 18, onde a recuperação do B proveniente do fertilizante nos ramos foi verificada. Inicialmente foram maiores nas porções do ponteiro e distal, porém, a medida que houve desenvolvimento do fruto, ocorreu uma quase equivalência entre as porções, concordando com o relatado por Xie et al. (1992) estudando plantas de algodão, em que durante o crescimento vegetativo o B

translocado foi direcionado principalmente para pontos de crescimento e folhas jovens, enquanto que durante o crescimento reprodutivo, o B foi direcionado prioritariamente para as folhas acompanhadas de órgãos reprodutivos.

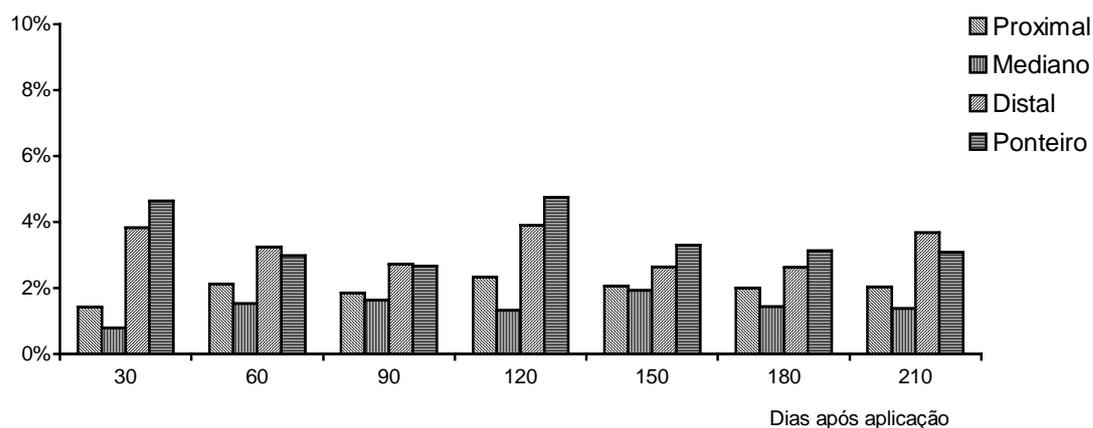


Figura 18. Recuperação isotópica de B em hastes de ramos de cafeeiro com folhas pinceladas com solução de 500 mg L⁻¹ de ácido bórico enriquecido com 34,27% de ¹⁰B. Aplicação realizada em setembro de 1998.

Esses resultados são comprovados através da Figura 19, que apresenta a quantidade de B aplicado nas folhas e recuperado nos frutos de cafeeiro. Observa-se a quantidade maior na primeira avaliação, o que pode ter influenciado as menores médias encontradas nos ramos nessa época, já que os frutos são os drenos principais, servindo os ramos de órgãos de reserva (Rena & Maestri, 1986), e posteriormente de dutos para a remobilização, já que tanto os frutos quanto as folhas apresentaram comportamentos semelhantes. A manutenção das quantidades nos frutos demonstra o suprimento constante de B, conforme foi relatado por Catani et al., (1967a).

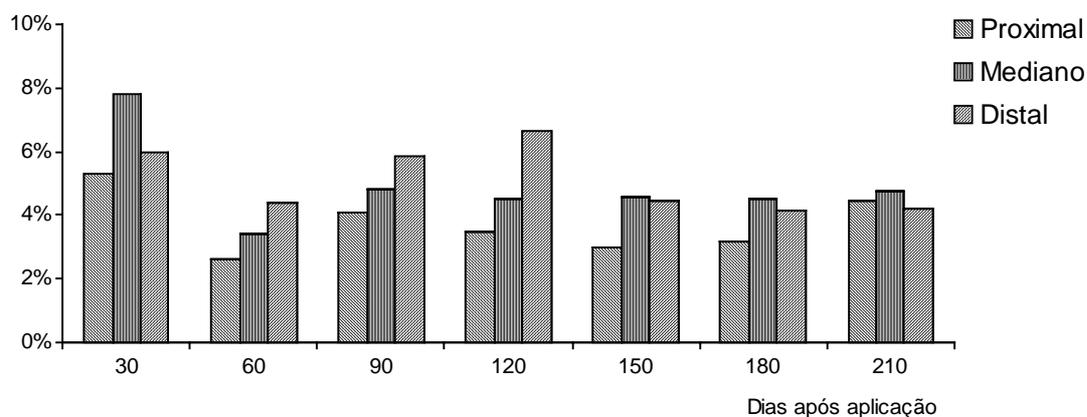


Figura 19. Recuperação isotópica de B nos frutos de cafeeiro com folhas pinceladas com solução de 500 mg L^{-1} de ácido bórico enriquecido com 34,27% de ^{10}B . Aplicação realizada em setembro de 1998.

4.4. Experimento 4. Fracionamento Celular

Os teores foliares de B (resultados não apresentados) foram semelhantes, independente da cultivar analisada, porém, quando se compara as cultivares, observa-se que a Mundo Novo apresentou teores superiores aos encontrados na Catuaí, sob mesmas condições. Segundo Hu et al. (1996), vários fatores podem interferir nas exigências de B, o que explicaria esta diferença entre as cultivares.

Os resultados da análise de parede celular, extraída das cultivares Catuaí e Mundo Novo (Figuras 20 e 21, respectivamente), demonstraram que houve uma correlação positiva entre a quantidade de B aplicado e o teor de B na parede, mesmo com níveis excessivos de B nas folhas (Malavolta, 1993). O B presente na parede celular das folhas estava complexado, pois se estivesse no apoplasto seria retirado pelas lavagens sucessivas no processo de isolamento da parede. Embora Hu & Brown (1994) não apresentem os teores

encontrados em seus experimentos, os autores descreveram que com o aumento da quantidade fornecida, houve diminuição na porcentagem total de B na parede, o que não ocorreu no caso do presente trabalho.

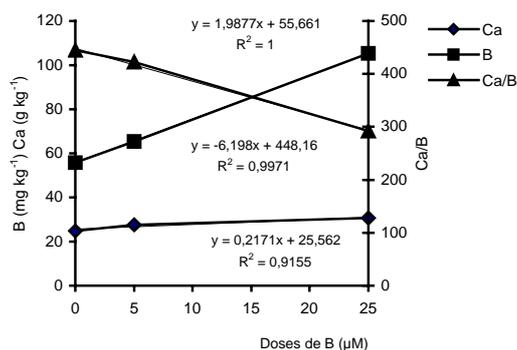


Figura 20. Resultados da análise de parede celular de folhas de café cultivar Catuaí sob diferentes doses de B quanto a teores de Ca e B, e a relação Ca/B.

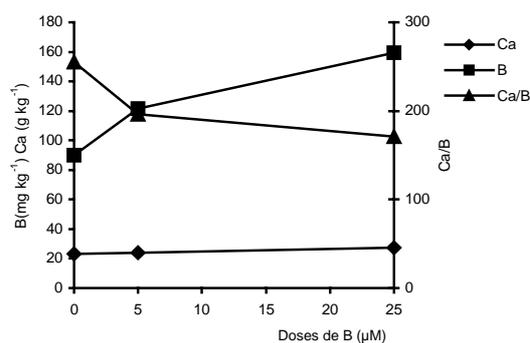


Figura 21. Resultados da análise de parede celular de folhas de café cultivar Mundo Novo sob diferentes doses de B quanto a teores de Ca e B, e a relação Ca/B.

Não foram encontrados na literatura sobre parede celular e B estudos quanto à concentração de Ca^{2+} na parede celular em relação à variação na quantidade fornecida de B. Nos resultados apresentados nas Figuras 20 e 21, pode-se observar que os teores de Ca^{2+} na parede praticamente não apresentaram alteração à medida que ocorreu aumento no teor de B na parede celular.

Como o Ca^{2+} é um constituinte que ocorre naturalmente no complexo B-RGII (Kobayashi et al., 1999), era de se esperar que houvesse alguma variação quanto ao teor deste elemento, porém, segundo o mesmo autor, o uso de solventes orgânicos como

metanol, etanol e clorofórmio, na preparação da amostra, podem alterar a solubilidade dos polissacarídeos, alterando os resultados encontrados. Com isto ficam em aberto mais algumas questões, dentre tantas que envolvem o B, quais sejam na relação entre B e Ca ao nível de parede celular, e até que ponto um nutriente interfere no comportamento do outro em suas ligações na parede.

Através da Figura 22 (A e B), obtida da microscopia eletrônica de varredura em ponteiro do ramo de plantas de cafeeiro, pode-se observar que os vasos condutores nas plantas em suficiência de B apresentam-se de modo contínuo, sem tortuosidades, enquanto que em plantas deficientes, há uma descontinuidade dos vasos, sendo estes tortuosos. Como não foi encontrada na literatura alguma citação sobre esse comportamento, podemos inferir que a diferença observada entre os feixes possa estar relacionada com o efeito do B sobre a parede celular.

A descontinuidade do feixe vascular, observada nos ramos de plantas deficientes, também foi observada nos vasos da nervura principal das folhas (Figura 23 A e B), onde nas plantas deficientes os vasos do xilema não estão dispostos uniformemente como nas plantas sem deficiência, o mesmo acontecendo com os vasos do floema, que são de formato mais regulares nas plantas bem nutridas.

Nas folhas pode-se observar ainda que a espessura da parede do xilema foi afetada. Matoh (1997) verificou engrossamento da parede celular de células das raízes de plantas submetidas à deficiência de B. Este espessamento deve estar relacionado à função do B em formar complexo com a RG-II, um complexo polissacarídeo da fração péctica da parede celular primária (Power & Woods, 1997). As regiões da RG-II são os sítios de conexão para os polissacarídeos pécticos, através de ligação B-diéster. O que ocorre é que na ausência de B,

as novas cadeias pécnicas secretadas não são ligadas à parede celular, o que poderia originar o formato esponjoso relatado pelo autor, implicando em aparente engrossamento da parede.

As paredes mais finas do xilema nas folhas das plantas deficientes podem ser explicadas pelo fato do xilema ser composto por células lignificadas (Brett & Waldron, 1996), nas quais não há mais deposição de cadeias pécnicas e, portanto, o aspecto esponjoso não pode ser observado, e pela biosíntese da lignina que é afetada pela deficiência de B (Pilbean & Kirkby, 1983).

Nos feixes vasculares das nervuras secundárias das folhas foi observado o mesmo comportamento do feixe vascular da nervura central, como se observa na Figura 23. O rompimento dos vasos do xilema, em cortes de plantas deficientes, provavelmente esteja relacionado a menor resistência destes ao corte, seja pela menor espessura da parede celular ou mesmo pelo comprometimento na lignificação devido à deficiência do B.

Anormalidades na parede celular de células do parênquima das folhas de plantas deficientes são apresentadas na Figura 24, a qual mostra a superfície tortuosa das células. Resultados obtidos por Matoh (1997) sugerem que o B tem função importante no “empacotamento” da parede, e que células das raízes deficientes em B apresentam alterações, que são mais distintamente visíveis nas paredes longitudinais.

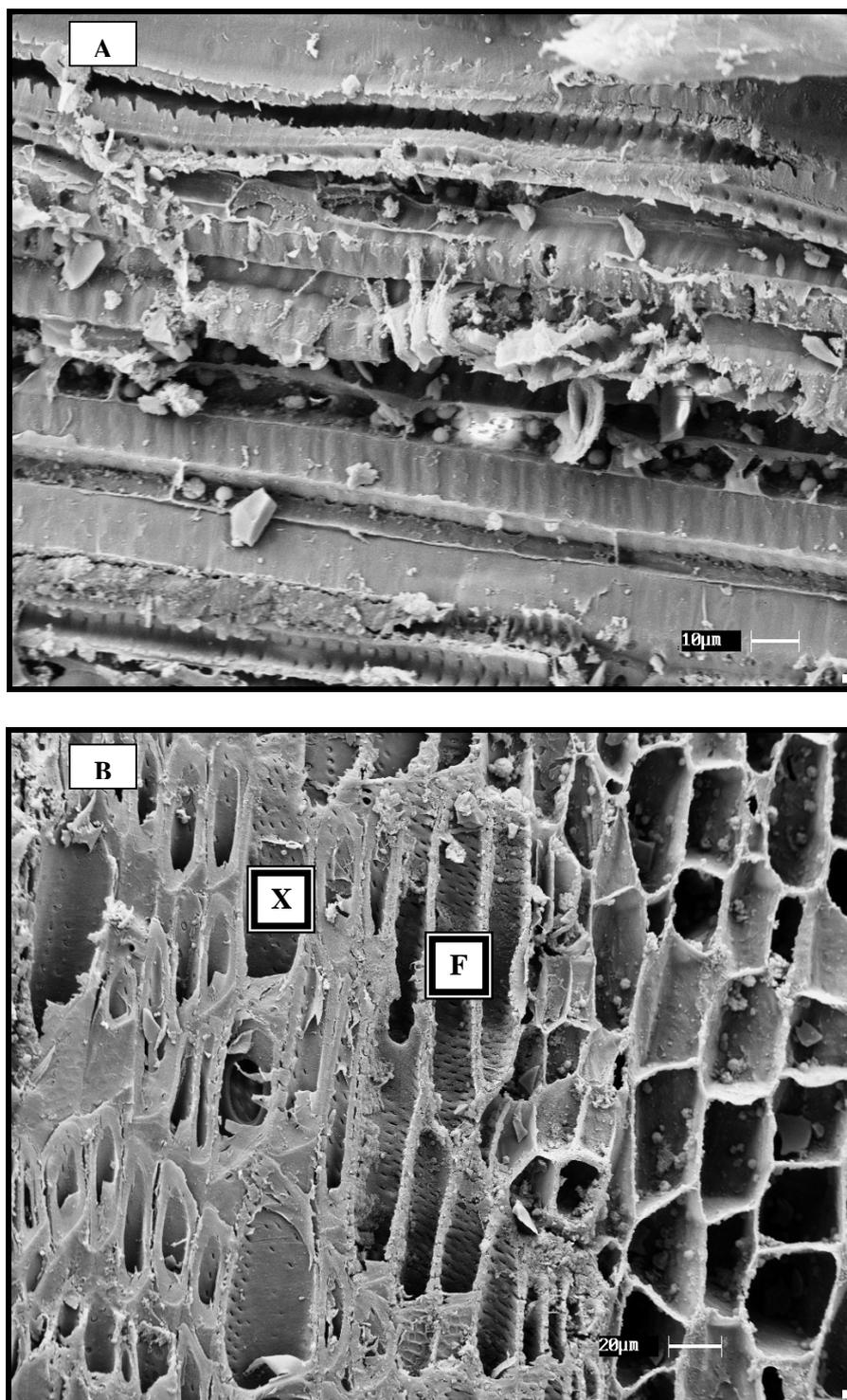


Figura 22. Microscopia eletrônica de varredura de feixe vascular de haste de cafeeiro, em suficiência (A) e deficiência (B) de B. Notar a descontinuidade dos vasos de xilema e de floema nas plantas deficientes, em relação ao observado nas plantas em suficiência de B.

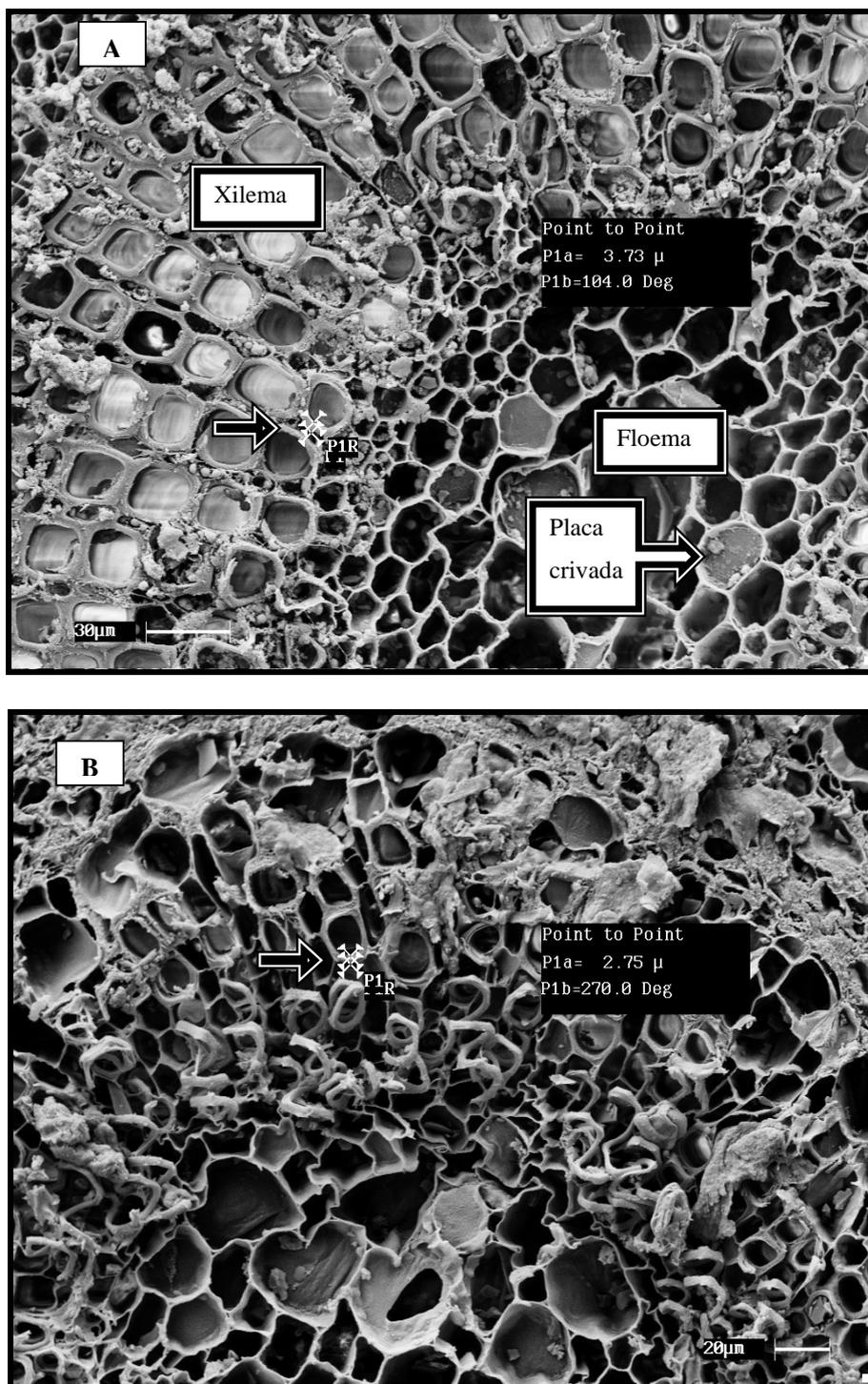


Figura 23. Microscopia eletrônica de varredura da nervura central de folhas de café, em suficiência (A) e deficiência (B) de B. Notar o desarranjo dos vasos de xilema e espessura menor em plantas deficientes, em relação ao observado em plantas em suficiência de B.

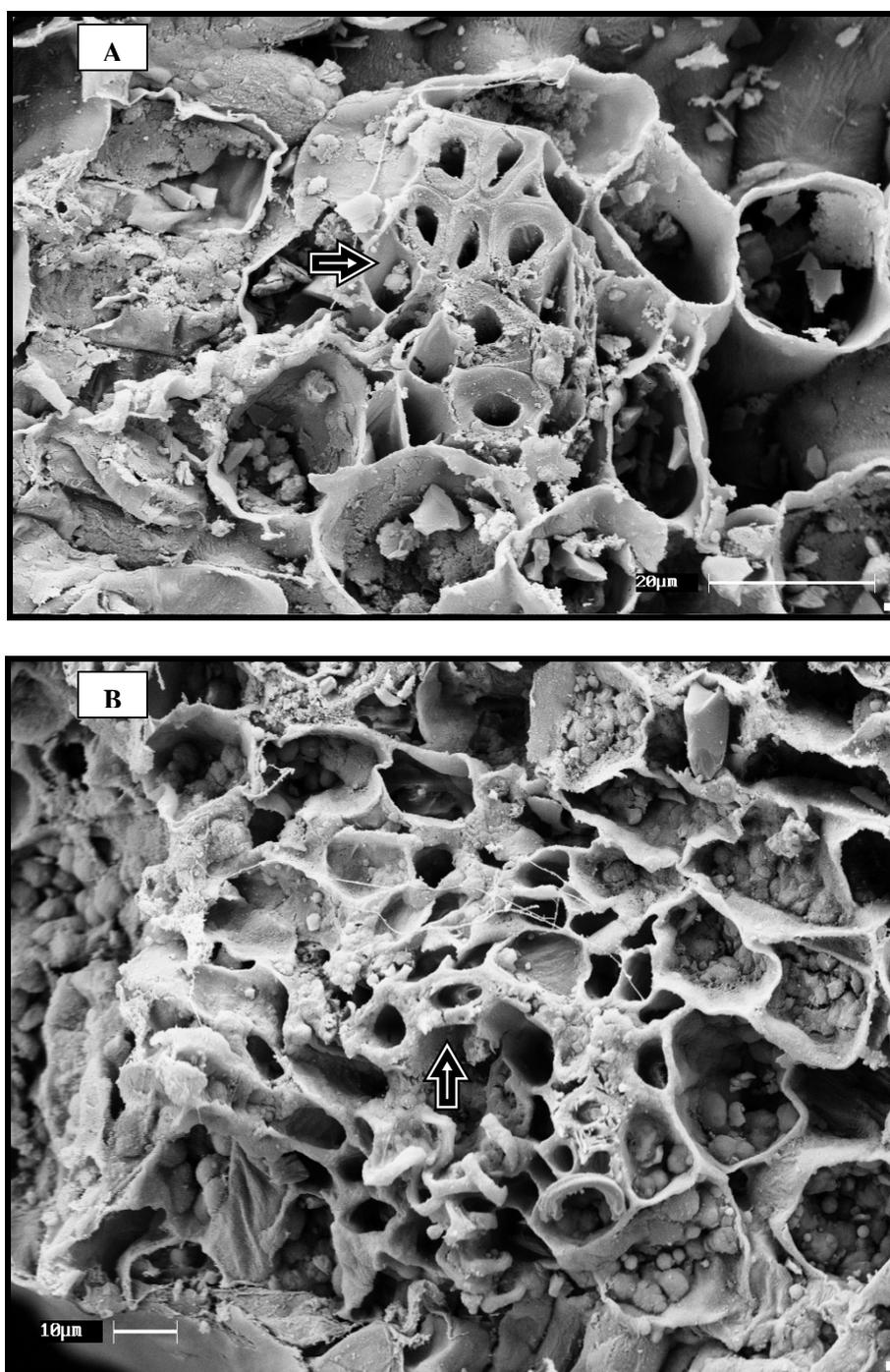


Figura 24. Microscopia eletrônica de varredura da nervura secundária de folha de cafeeiro, em suficiência (A) e deficiência (B) de B. Notar o desarranjo dos vasos de xilema em plantas em deficiência de B.

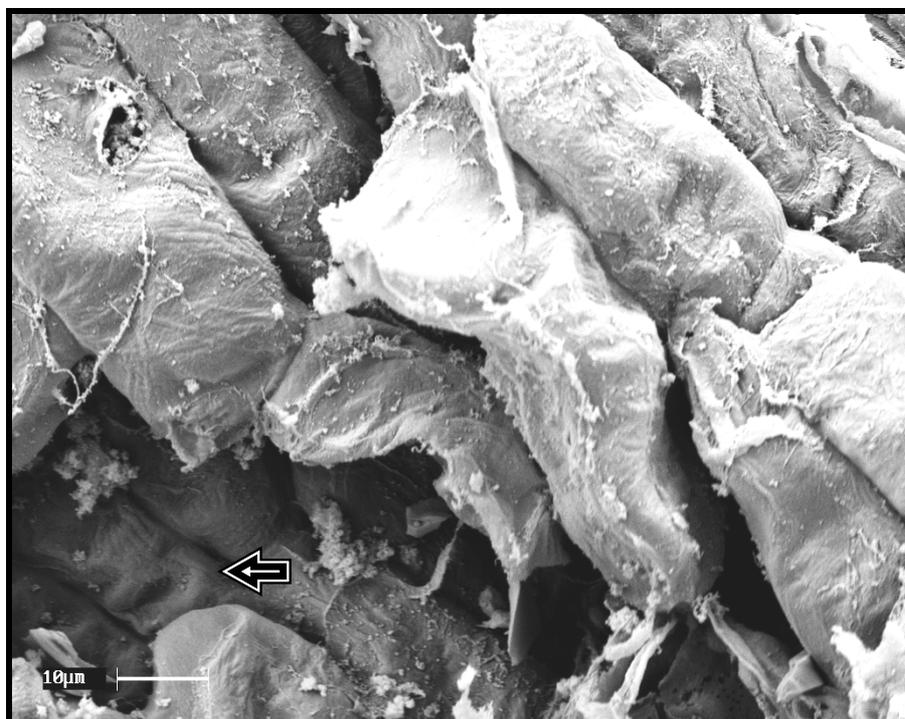


Figura 25. Microscopia eletrônica de células do parênquima de folhas de café submetidas à deficiência de B. Notar a superfície irregular da parede das células.

Oertli (1994) descreveu que a concentração de B em uma mesma folha podia variar e que a taxa de transpiração afetava o transporte de B dentro das folhas. Neste experimento, observou-se que a quantidade e o formato dos estômatos na mesma folha de plantas deficientes em B variam de acordo com a região observada, se na parte sem os sintomas ou com os sintomas de deficiência, como é demonstrado na Figura 26. Na região da folha que não apresenta os sintomas de deficiência, existe uma quantidade de estômatos muito maior por área do que na região com sintomas, e os estômatos desta região não têm o mesmo formato da região sem sintomas. Essas alterações podem afetar a taxa de transpiração, diminuindo-a, o que leva também a uma menor concentração de B e o aparecimento dos sintomas.

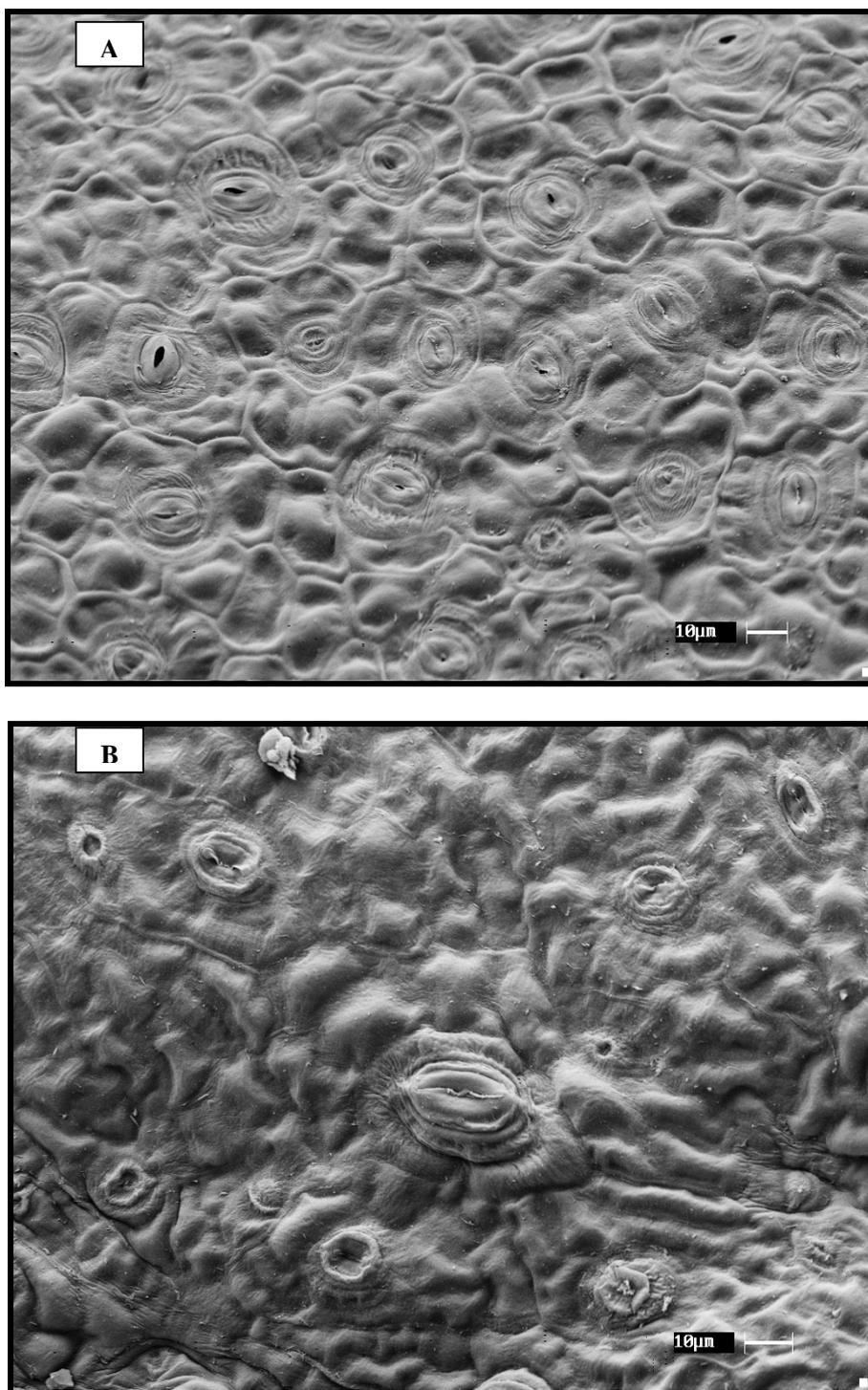


Figura 26. Microscopia eletrônica de varredura da superfície abaxial de folha de plantas de cafeeiro, em suficiência (A) e deficiência (B) de B. Notar a diferença entre a quantidade e o formato dos estômatos nas diferentes regiões da mesma folha.

5. CONCLUSÕES

1. A produção de grãos em condições limitantes de B foliar não respondeu a aplicação foliar em pré e/ou pós-florada.
2. Somente uma aplicação foliar não foi suficiente para elevar o teor de B a níveis considerados suficientes, em folha ou ramos, porém preveniu os efeitos da deficiência do B sobre o crescimento vegetativo.
3. A produção de material seco dos frutos esteve intimamente correlacionada com teor foliar de B.
4. O B foi translocado das folhas recém maduras para as partes mais novas, inclusive raízes, e para os frutos, preferencialmente.
5. A deficiência de B afetou o comportamento dos feixes vasculares nos ramos e nas folhas, e a quantidade e o formato dos estômatos nas folhas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, S.R., MATIELLO, J.B. Modos e novas fontes de fornecimento de Boro ao cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 21, 1995, Caxambu. *Anais...* Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro do Café, 1995. p. 116-7.
- ALMEIDA, S.R., MATIELLO, J.B. Modos e novas fontes de fornecimento de Boro ao cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 22, 1996, Águas de Lindóia. *Anais...* Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro do Café, 1996. p. 83-4.
- BARROS, U.V., SANTINATO, R., MATIELLO, J.B. Fontes, doses e método de aplicação de B no plantio de café na região da Zona da Mata em Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 22, 1996, Águas de Lindóia. *Anais...* Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro do Café, 1996. p.117-8.
- BRETT, C.T., WALDRON, K.W. Cell architecture and the skeletal role of the cell wall. In: _____. *Physiology and biochemistry of plant cell walls*. London: Chapman & Hall, 1996. p.44-74.
- BROWN, P.H., BELALOU, N. HU, H., DANDEKAR, A. Transgenically enhanced sorbitol synthesis facilitates phloem boron transport and increases tolerance of tobacco to boron deficiency. *Plant Physiol.*, v.119, p.17-20, 1999.

- BROWN, P.H., HU, H. Boron uptake by sunflower, squash and cultured tobacco cells: Studies with stable isotope and ICP-MS. *Plant Soil*. v.155-6, p.147-50, 1993.
- BROWN, P.H., HU, H. Boron uptake by sunflower, squash and cultured tobacco cells. *Plant Physiol.*, v.91, p.435-41, 1994.
- BROWN, P.H., HU, H. Phloem mobility of boron is species dependent: evidence for phloem mobility in sorbitol-rich species. *Ann. Bot.*, v.77, p.497-505, 1996.
- BROWN, P.H., HU, H. Does boron play only a structural role in the growing tissues of higher plants?. *Plant Soil*, v.196, p. 211-5. 1997.
- BROWN, P.H., HU, H. Phloem boron mobility in diverse plant species. *Bot. Acta*, v.111, p.331-5, 1998.
- BROWN, P.H., PICCHIONI, G., JENKIN, M. HU, H. Use of ICP-MS and ¹⁰B to trace movement in plants and soil. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, v.23, p.2781-7, 1992.
- BROWN, P.H., SHELP, B.J. Boron mobility in plants. *Plant Soil*, v.193, p.85-101, 1997.
- CAKMAK, I., RÖMHELD, V. Boron deficiency-induced impairments of cellular functions in plants.. *Plant Soil*. v.193, p.71-83, 1997.
- CATANI, R.A., PELLEGRINO, D., ALCARDE, J.C., GRANER, C.A.F. Variação na concentração e na quantidade de macro e micronutrientes no fruto do cafeeiro, durante o seu desenvolvimento. *An. Esc. Super. Agric. "Luis de Queiroz" – Univ. São Paulo*, v.24, p.249-63, 1967a.
- CATANI, R.A., PELLEGRINO, D., BITTENCOURT, V.C., JACINTHO, A.O., GRANER, C.A.F. A concentração e a quantidade de micronutrientes e de alumínio no cafeeiro (*Coffea arabica*, L. var. Mundo Novo (B. Rodr.) Choussy), aos dez anos de idade. *An. Esc. Super. Agric. "Luis de Queiroz" – Univ. São Paulo*, v.24, p.97-106, 1967b.

- CIETTO, S., HAAG, H.P. Nutrição mineral do cafeeiro III. Recrutamento de B, Cu, Fe, Mn e Zn pelo cafeeiro (*Coffea arabica* L. cv. Catuaí) com dois, três, quatro e cinco anos de idade nas fases fenológicas de repouso, granação e maturação vegetando em um latossolo vermelho amarelo, fase cerrado. *An. Esc. Super. Agric. "Luis de Queiroz" – Univ. São Paulo*, v.46, p.403-31, 1989.
- De BIEVRE, P., BARNES, I.L. Atomic weight of the elements based on the carbon 12 standard. *Int. J. Mass Spectr. Ion Proc.*, v.65, p.211-30, 1985.
- DELL, B., HUANG, L. Physiological response of plants to low boron. *Plant Soil*, n.193, n.1-2, p.103-20, 1997.
- DORDAS, C., BROWN, P.H. Permeability of boric acid across lipid bilayers and factors affecting it. *J. Membrane Biol.*, v.175, p. 95-105, 2000.
- FRANCO, C.M. Micronutrientes na cultura do cafeeiro. In: _____. *Micronutrientes*. Campinas:Fundação Cargill, 1982. p.75-90.
- FRANCO, C.M., GALLO, J.R. Toxidez de B ao cafeeiro. *Série experimentação agrícola*, v.1, p.1-10, 1976.
- GARATE, A., CARPENA-RUIZ, R.O., RAMON, A.M. Influence of boron on manganese and other nutrients in vascular fluid. *An. Edafol. Agrobiol.*, v.43, p.1467-77, 1984.
- GARCIA, A.W.R. Retirada de nutrientes pela produção do cafeeiro cultivares Mundo Novo, Catuaí e Catimor. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 8, 1981, Campos do Jordão. *Anais...* Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro do Café, 1981. p.3-6.
- HAAG, H.P., DECHEN, A.R., CARMELLO, Q.A.C. Culturas estimulantes. In: FERREIRA, M.E., CRUZ, M.C.P. (Ed.) SIMPÓSIO SOBRE MICRONUTRIENTES NA AGRICULTURA, 1991, Jaboticabal. *Anais...* Piracicaba:POTAFOS, 1991. p.501-48.
- HANSON, E.J. Movement of boron out of tree fruit leaves. *Hortscience*, v.26, p.271-3. 1991.

- HU, H., BROWN, P.H. Localization of boron in cell walls of squash and tobacco and its association with pectin. Evidence for a structural role of boron in the cell wall. *Plant Physiol.*, v.105, p.681-9, 1994.
- HU, H., BROWN, P.H. Absorption of boron by plant roots. *Plant Soil*, v.193, p.49-58, 1997
- HU, H., BROWN, P.H., LABAVITCH, J.M. Species variability in boron requirement is correlated with cell wall pectin. *J. Exp. Bot.*, v.47, p.227-32, 1996.
- HU, H., PENN, S.G., LEBRILLA, C.B., BROWN, P.H. Isolation and characterization of soluble boron complexes in higher plants. The mechanisms of phloem mobility of boron. *Plant Physiol.*, v.113, p.649-55, 1997.
- KOBAYASHI, M., MATOH, T. *In vitro* reconstitution of the boron-polyssacharide complex purified from cultured tobacco BY-2 cells. In: BELL, R.W., RERKASEM, B. (Ed) Boron in soil and plants. Dordrecht:Kluwer Academic Publishers, 1997. p.237-41.
- KOBAYASHI, M., NAKAGAWA, H., ASAKA, T., MATOH, T. Borate-rhamnogalacturonan II bonding reinforced by Ca²⁺ retains pectic polysaccharides in higher-plant cell walls. *Plant Physiol.*, v.119, p.199-203, 1999.
- KOUCHI, H., KUMAZAWA, K. Anatomical responses of root tips to boron deficiency. I. Effect of boron deficiency on elongation of root tips and their morphological characteristics. *Soil Sci. Plant Nutr.*, v.21, p.21-8, 1975.
- LIMA FILHO, O.F., MALAVOLTA, E. Calibração de boro e zinco para o cafeeiro (*Coffea arabica* L. cv. Catuaí Amarelo). In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 20, 1992, Piracicaba. *Anais...* Piracicaba:POTAFOS, 1992. p.54-5.
- LIMA FILHO, O.F., MALAVOLTA, E. Evaluation of extraction procedures on determination of critical soil and foliar level of boron and zinc in coffee plants. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, v.29, p.825-33, 1998
- LOOMIS, W.D., DURST, R.W. Chemistry and biology of boron. *Biofactors*, v.3, p.229-39, 1992.

- MADORE, M.A. Carbohydrate synthesis and crop metabolism. In: PESSARAKLI, M. (Ed.) *Handbook of plant and crop physiology*. New York:Marcel Bekker, 1994. p.257-73.
- MALAVOLTA, E. Nutrição, adubação e calagem para o cafeeiro. In: RENA, A., MALAVOLTA, E., ROCHA, M., YAMADA, T. (Ed.) *Cultura do cafeeiro:fatores que afetam a produtividade*. Piracicaba:Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fósforo, 1986. p.165-274.
- MALAVOLTA, E. Nutrição mineral e adubação do cafeeiro. São Paulo: Agronômica Ceres, 1993. 210p.
- MALAVOLTA, E., VITTI, G.C., OLIVEIRA, S.A. Metodologia para análise de elementos em material vegetal. In:____. *Avaliação do estado nutricional das plantas:princípios e aplicações*. 2 ed. Piracicaba: Associação Brasileira para a Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. p.231-307.
- MARENTES, E., VANDERPOOL, R.A., SHELP, B.J. Boron-isotope fractionation in plants. *Canadian J. Plant Sci.*, v.77, p.627-9, 1997.
- MARUBAYASHI, O.M., PEDROSO, P.A.C., VITTI, G.C., COSTA, W.M. Efeito de fontes e formas de aplicação de boro e zinco na cultura do cafeeiro. *Científica*, v.22, p.289-99, 1994.
- MATOH, T. Boron in plant cell wall. *Plant Soil*, v.193, p. 59-70, 1997.
- MATOH, T., ISHIGAKI, K-I, MIZUTAMI, M., MATSUNAGA, W., TAKABE, K. Boron nutrition of cultured tobacco BY-2 cells I. Requirements for an intracellular localization of boron and selection of cells that tolerate low levels of boron. *Plant Physiol.*, v.33, p.1135-41, 1992.
- MATOH, T., ISHIGAKI, K-I, OHNO, K., AZUMA, J-I Isolation and characterization of a boron-polysaccharide complex from radish roots. *Plant Cell Physiol.*, v.34, p.639-42, 1993.
- MATOH, T., KAWAGUCHI, S., KOBAYASHI, M. Ubiquity of a borate-rhamnogalacturonan II complex in the cell walls of higher plants. *Plant Cell Physiol.*, v.37, p.636-40, 1996.

- MATSUNAGA, T., NAGATA, T. *In vivo* ¹¹B NMR observation of plant tissue. *Anal. Sci.* v.11, p.889-92, 1995.
- NAGAI, V., IGUE, T., HIROCE, R., ABRAMIDES, E., GALLO, J.R. Relação entre os nutrientes dosados nas folhas de cafeeiro. *Bragantia*, v.33, p.131-4, 1974.
- NYOMORA, A.M.S., BROWN, P.H. Rate and time of boron application increase almond productivity and tissue boron concentration. *Hortscience*, v.2, p.242-5, 1999.
- OERTLI, J.J. The mobility of boron in plants. *Plant Soil*. n.155-6, p.301-4, 1993.
- OERTLI, J.J. Non-homogeneity of boron distribution in plants and consequences for foliar diagnosis. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, v.25, p.1133-47, 1994.
- PARR, A.J., LOUGHMAN, B.C. Boron and membrane function in plants. In: ROBB, D.A., PIERPOINT, W.S. (Ed.) *Metals and micronutrients, uptake and utilization by plants*. London: Academic Press, 1983. p.87-107.
- PICCHIONI, G.A., WEINBAUM, S.A., BROWN, P.H. Retention and kinetics of uptake and export of foliage-applied, labeled boron by apple, pear, prune, and sweet cherry leaves. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, v.120, p.28-35, 1995.
- PILBEAN, D.J., KIRKBY, E.A. The physiological role of boron in plants. *J. Plant Nutr.*, v.6, p.563-82, 1983.
- POWER, P.P., WOODS, W.G. The chemistry of boron and its speciation in plants. *Plant Soil*, v.193, p.1-13, 1997.
- RENA, A.B., MAESTRI, M. Fisiologia do cafeeiro. In: RENA, A., MALAVOLTA, E., ROCHA, M., YAMADA, T. (Ed.) *Cultura do cafeeiro: fatores que afetam a produtividade*. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fósforo, 1986. p.165-274.

- ROSOLEM, C.A., COSTA, A. Cotton growth and boron distribution in the plant as affected by a temporary deficiency of boron. *J. Plant Nutr.*, v.23, p.815-25, 2000.
- SACRAMENTO, L.V.S. *Absorção foliar, radicular e translocação de zinco em cafeeiro (Coffea arabica L.)*. Botucatu, 1998. 125p. Tese (Doutorado em Agronomia/Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.
- SAH, R.N., Brown, P.H. Boron determination – a review of analytical methods. *Microchem. J.*, v.56, p.285-304, 1997.
- SANTINATO, R., SENA, C.A., SILVA, A.A., CAMARGO, R.P. Efeitos de P, Ca e B via foliar no pegamento de florada e frutificação do cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 17, 1991, Campos do Jordão. *Anais...* Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro do Café, 1991. p.36-8.
- SANTINATO, R., CAMARGO, R.P., BATISTA, R.B., PEREIRA, E.M. Quantificação de boro orgânico (ager boro) via foliar para o cafeeiro, seu efeito sobre aplicação na florada e seu comportamento no solo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 20, 1994,. *Anais...* Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro do Café, 1994. p.163-5.
- SHARMA C.P., SHARMA, P.N. Mineral nutrient deficiencies affect plant water relations. *J. Plant Nutr.*, v.10, p.1637-43, 1987.
- SHELP, B.J. Boron mobility and nutrition in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Ann. Bot.*, v.61, p. 83-91, 1988.
- SHELP, B.J. Physiology and biochemistry of boron in plants. In: GUPTA, U.C.(Ed) Boron and its role in crop production. Boca Raton:CRC, 1993. p53-85.
- SHELP, B.J., VIVEKANANDAN, P., VANDERPOOL, R.A., KITHEKA, A.M. Translocation and effectiveness of foliar-fertilized boron in broccoli plants of varying boron status. *Plant Soil.* v.183, p.309-13, 1996.
- SHU,Z.H., OBERLY,G.H., CARY,E.E. Time course study on the mobility and pattern of distribution of foliar-applied boron in peaches. *J.Plant nutr.*, v.16, p.1661-73, 1993.

- SHU,Z.H., OBERLY,G.H., CARY,E.E., RUTZKE, M. Absorption and translocation of boron applied to aerial tissues of fruiting 'Reliance' peach trees. *Hortscience*. v.29, p.25-7, 1994b.
- SHU,Z.H., WU,W.Y.J., OBERLY,G.H., CARY,E.E. Permeability of peach leaf cuticles to boron. *J. Plant Nutr.*, v.17, p.1231-42, 1994a.
- TRIVELIN, P.C.O. *Utilização do nitrogênio pela cana-de-açúcar: três casos estudados com uso do traçador ¹⁵N*. Piracicaba, 2000. 143p. Tese (Livre Docência em Isótopos Estáveis) – Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- VANDERPOOL, R.A., JOHNSON, P.E. Boron isotope ratios in commercial produce and boron-10 foliar and hydroponic enriched plants. *J. Agric. Food Chem.*, v.40, p.462-6, 1992.
- Van GOOR, B., Van LUNE, P. Redistribution of potassium, boron, iron, magnesium and calcium in apple trees determined by an indirect method. *Physiol. Plant.*, v.48, p.21-6, 1980.
- VOLKWEISS, S.J. Fontes e métodos de aplicação. In: FERREIRA, M.E., CRUZ, M.C.P. (Ed.) SIMPÓSIO SOBRE MICRONUTRIENTES NA AGRICULTURA, 1991, Jaboticabal. *Anais...* Piracicaba:POTAFOS, 1991. p.391-412.
- XIE,Q., WEI,W.X., WANG,Y.H. Studies on absorption, translocation and distribution of boron in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Acta Agron. Cínica*, v.18, p.31-7, 1992.

APÊNDICE 1

APÊNDICE 1

Formulário de preenchimento diário para utilização do ICP-MS, mostrando a marca comercial do equipamento, operadores, método a ser utilizado e os parâmetros de calibração.

PQ ExCell INSTRUMENT LOG			
			Drive D, MB free: 763
Date: Feb 8, 2001		Operator: AU/Vagner Leite	
On: 10:05	Off: 03:05	Index# UC Davis	
Method?:		Manual / <u>Autospl</u> / Dionex / Laser / _____	
Pressure	<u>Expansion</u>	<u>Analyzer</u>	
Vacuum Ready	***	7.4×10^{-8}	
Operate	1.6 mbar	3.1×10^{-6} mbar	
Glassware replaced: Yes <input type="radio"/> No <input checked="" type="radio"/>			
Cones cleaned: Yes <input checked="" type="radio"/> No <input type="radio"/>		Sample cone # 99-6454	Skimmer # 99-5897
<i>Continue w/ same cones</i>			
Ion Optics	<i>No tuning</i>	ICP: Torch	Gas Flows
EXTR: -593	L2: -93.5	Depth: 330	Cool: 13.00
D1: -23.1	L3: -152.4	Hor: 64	Aux: 1.00
L1: -0.2	Focus: 27.8	Vert: 43	Neb: 1.04
Pole Bias (Do not Adjust): 3.0			
RF GENERATOR Fwd pwr: 1386		Refl. pwr: 36	
Neb Press: 3.05		Chiller Temp.: 15°C	
		Peltier Temp.: 4°C	
Comments <i>Continue Boron measurements</i>			
<i>No tuning ~75k In-115, 32k Be-9</i>			
<i>& Installed new drop for Axion, shortened flex duct on ExCell to improve efficiency</i>			
Feb 08	Boron set 1	11:36	140 tubes
Feb 08	Boron set 2	19:50	123 tubes 0me 03:02

APÊNDICE 2

APÊNDICE 2

Hanson (1991) calculou a contribuição do B aplicado para o B total no tecido usando estudo de ^{15}N enriquecido, e a percentagem de B derivado da aplicação usando a fórmula de %Bdff dependente da fórmula de isótopo em excesso:

$$\% \text{Átomo } ^{10}\text{B em excesso} = \% ^{10}\text{B amostra} - \% ^{10}\text{B nativo (19,8\%)}$$

$$\% \text{Bdff} = (\% ^{10}\text{B excesso} / \% ^{10}\text{B aplicado}) * 100$$

Mas observa-se que mesmo para o mesmo autor, os cálculos podem variar. Como é o caso de Brown et al. (1992):

$$\% \text{Bdff} = (AT\% ^{10}\text{B}_{am} - AT\% ^{10}\text{B}_{n.t.}) / (AT\% ^{10}\text{B}_s - AT\% ^{10}\text{B}_{n.t.}) * 100$$

$$AT\% = ^{10}\text{B}/\text{B}_t * 100$$

e Brown et al. (1999), que por sua vez, calcularam o excesso de isótopo ^{10}B a partir da seguinte fórmula:

$$\% \text{Átomo } ^{10}\text{B em excesso} = (^{10}\text{B}/^{11}\text{B}_{trat} - ^{10}\text{B}/^{11}\text{B}_{test}) * 100$$

Shelp et al. (1996) utilizaram a seguinte fórmula para calcular a percentagem de B derivada da aplicação foliar em seus experimentos:

$$\% \text{Bdff} = [(\% ^{10}\text{B}_t - \% ^{10}\text{B}_u) / (\% ^{10}\text{B}_s - \% ^{10}\text{B}_u)] * 100$$

sendo t , u e s referindo-se as percentagens de isótopo ^{10}B na amostra tratada, da testemunha sem tratamento e da solução, respectivamente. Percebe-se que a variação existente entre fórmulas é meramente de nomenclatura.