

CINÉTICA DE ABSORÇÃO DE FÓSFORO EM RAZÃO DO TEOR DE MAGNÉSIO EM CAFEIEIRO¹

Ana Paula Neto²; José Laércio Favarin³; Pedro Paulo Teixeira Carvalho⁴; Tiago Tezotto²; Karina Moreira de Souza⁵

¹ Trabalho financiado pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP

² Estudante de Doutorado em Fitotecnia, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, Piracicaba-SP, apneto@usp.br; tiago.tezotto@usp.br

³ Professor do Departamento de Produção Vegetal, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, Piracicaba-SP, favarin.esalq@usp.br

⁴ Estudante de Mestrado em Fitotecnia, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, Piracicaba-SP, ppdteix@gmail.com

⁵ Estudante de Graduação em Agronomia, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, Piracicaba-SP, kah_souz@hotmail.com

RESUMO

Embora o sinergismo entre o fósforo e o magnésio seja conhecido, os mecanismos relativos a essa interação ainda não foram elucidados. Essa pesquisa avaliou os mecanismos relacionados à absorção do fósforo (P) por mudas de café, submetidas a dois teores de magnésio na solução (0,02 e 2 mmol de Mg). As mudas de café arábica foram cultivadas em solução nutritiva de Epstein & Bloom com quatro repetições. A solução nutritiva para avaliar os parâmetros de absorção do P foi coletada até 200 h após a exposição aos teores de Mg. No teor de 2 mmol de Mg, o P foi absorvido em 120 horas e atingiu concentração mínima (C_{min} igual a 1,63 μmol), enquanto sob 0,02 mmol de Mg a C_{min} não foi alcançada mesmo após 192 horas, pois ainda havia em solução 23,26 μmol de P. A velocidade máxima de absorção (V_{max}) e a constante de Michaelis-Menten (K_m) para a absorção do fósforo aumentaram em 7,5 e 1,8 vezes, nessa ordem, quando forneceu 2 mmol de Mg. Portanto, presença de Mg na solução contribuiu para maior eficiência dos mecanismos de absorção do P pela planta.

Palavras-chave: *Coffea arabica* L., concentração mínima, constante de Michaelis–Menten, interação, velocidade de absorção

KINETICS OF PHOSPHORUS UPTAKE ACCORDING TO THE AVAILABILITY OF MAGNESIUM IN PLANTS OF COFFEE ARABICA

ABSTRACT

Although the interaction between phosphorus and magnesium is well known, the mechanisms involved in this interaction have not been elucidated. The objective of this research was to investigate the interaction between P and Mg, by monitoring the kinetics uptake (V_{max}, K_m and C_{min}). Arabica coffee seedlings were grown in nutrient solution at two concentrations of Mg, 0.02 mmol (low) and 2 mmol (high) in 4 replicates. The kinetic parameters of P uptake (V_{max}, K_m and C_{min}) were affected by the availability of Mg to the coffee plants. Under high magnesium, phosphorus was absorbed in 120 hours and reached the minimum concentration (C_{min}) 1.63 μmol. But in low Mg, the coffee plants not reached the C_{min} even after 192 hours of experiment. The speed of uptake of phosphorus (V_{max}) at high Mg increased 7 times (1,3 mol h⁻¹) with respect to the maximum speed at low Mg. (0,18 mol h⁻¹). The K_m was higher (43,91 μmol of P) in the condition of high-Mg while in low Mg the K_m was 23,85 μmol h⁻¹. In coffee, increased availability of Mg increase the P uptake.

KEY WORDS: *Coffea arabica* L., minimum concentration, constant of Michaelis-Menten, interaction, uptake speed

INTRODUÇÃO

As pesquisas feitas desde o início do século XX, afirmam que "o magnésio é carregador de fósforo", em razão da relação positiva entre o P e o Mg (Neptune, 1986). Em trabalhos realizados na década de 1940, em plantas de ervilha, o suprimento de Mg aumentou a concentração de P muito acima do que o fornecimento exclusivo de P (Trough et al, 1947).

O Mg é um macronutriente essencial para o crescimento das plantas, pela importância na estabilidade estrutural da clorofila, ativando um grande número de enzimas e contribuindo para a estabilidade de membranas (Maguire e Cowan, 2002; Knoop et al, 2005). Esse nutriente participa, ainda, da ativação da ATPase, uma enzima da membrana relacionada com a absorção, assim como da produção de ATP na fase fotoquímica da fotossíntese e na respiração celular (Lilley et al, 1974; Marschner, 2002; Malavolta, 2006).

Nas plantas, acredita-se que as interações entre P e Mg estejam relacionadas as reações de transferência de energia na célula (Bergmann, 1992), como na atividade das enzimas quinases e nas reações de transferência de fosfato (Fageria, 2001). Um baixo suprimento de magnésio compromete o fluxo de carboidratos da fonte para os drenos em até 79%, com prejuízo para o crescimento das raízes (Marschner e Cakmak, 1989; Cakmak et al., 1994; Ericsson e Kahr, 1995). O Mg possivelmente está envolvido no transporte pelo floema, pois é um ativador alostérico de complexos de proteínas (Cowan 2002) e interage com ATP alimentando a H^+ -ATPase, o que gera a força motriz protônica, capaz de energizar o carregamento "simpote" de sacarose. Da mesma forma, pirofosfatases que atuam no transporte de longa distância de açúcares (Lerchl et al, 1995), também requerem Mg para a hidrólise de pirofosfato. No solo, o fornecimento de Mg aumenta a dessorção de P (Shariatmadari e Mermut, 1999). Em cevada, observou que a absorção e o transporte de fosfato aumentaram na presença de Mg, em consequência da diminuição da constante de Michaelis-Menten (Km), e pelo aumento da velocidade máxima de absorção (Vmax) (Lourenço et al., 1968). O objetivo dessa pesquisa foi avaliar os parâmetros de absorção de fósforo (Vmax, Km, Cmin) por mudas de cafeeiro, em razão dos teores de magnésio em solução nutritiva.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Produção Vegetal, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", em Piracicaba/SP, com plantas da espécie *Coffea arabica* L. cv. Catuaí. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições.

As mudas de café com dois pares de folhas foram mantidas, por sete dias, em recipientes com água deionizada. Após esse período, iniciou o fornecimento de solução nutritiva (25 % da concentração final), depois de mais sete dias substituiu a por uma solução com 50% da concentração, e no final de outros sete dias por solução nutritiva completa (100%) (Epstein e Bloom, 2005) (Tabela 1). A cada 15 dias, ou quando a condutividade elétrica decrescia 30%, a solução nutritiva era substituída.

Tabela 1 - Volume da solução estoque empregadas no preparo da solução nutritiva

Soluções estoque		Padrão	Mg alto volume (mL L ⁻¹)	Mg baixo
Ca(NO ₃) ₂	1 mol	4	4	4
KNO ₃	1 mol	4	4	4
NH ₄ NO ₃	1 mol	2	2	0
(NH ₄) ₂ SO ₄	1 mol	2	0	2
KH ₂ PO ₄	1 mol	1	0,05	0,05
KCl	1 mol	2	2	2
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 mol	1	2	0,02
Micro-Fe		1	1	1
Fe-EDTA		0,5	0,5	0,5

* Composição da solução de micronutrientes (mg): H₃BO₃ = 0,27; MnSO₄.10H₂O = 0,11; ZnSO₄.7H₂O = 0,13; CuSO₄.5H₂O = 0,03 e Na₂MoO₄.2H₂O = 0,05; NiSO₄.6H₂O = 0,06.

** Dissolveram-se 26,1 g de EDTA dissódico em 286 mL de NaOH 1 mol, misturando-se com 24,0 g de FeSO₄.7H₂O, arejando-se por uma noite e completando-se a 1 L de água deionizada.

A cinética de absorção do fósforo foi realizada dois meses após o transplante na solução nutritiva completa. Cinco dias antes da realização da cinética as plantas foram transferidas para uma solução sem fósforo e magnésio. Após esse período, na manhã do dia, as raízes foram lavadas e transferidas para a solução de cinética com 0,02 e 2 mmol de Mg. A concentração inicial de fósforo foi 0,05 mmol (Tabela 1). Esse teor de P foi definido em experimento previamente realizado.

A avaliação iniciou as 6h30' da manhã e a partir das 7h00 foram retiradas alíquotas de 6 mL da solução a cada hora, durante seis horas. A partir das 13h00, as alíquotas foram retiradas a cada duas horas até às 19h00, e a partir desse momento a cada 12 horas, às 7h00 e às 19h00 de cada dia, até atingir a concentração mínima de fósforo. A solução nutritiva foi completada a cada coleta, para repor a solução retirada e a água transpirada pelo cafeeiro. O experimento foi encerrado ao final de oito dias de avaliação, quando a concentração de P era mínima (Cmin). As alíquotas retiradas foram armazenadas a 4°C.

Após a realização da cinética, as plantas foram coletadas e divididas em raiz e parte aérea para avaliação da massa seca das partes, depois da secagem em estufa com circulação de ar a 65°C, durante 72 horas.

O fósforo e o magnésio na solução foram determinados por espectrometria de emissão óptica, com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES). Os dados da concentração de P na solução retirada em cada tempo de amostragem, bem como os dados de volume da solução nos vasos (1 L), tempo total de amostragem (200 horas), volume da amostra (6 mL), e a massa seca de raiz, foram utilizados para calcular os parâmetros cinéticos (Km e Vmax), empregando o software CinéticaWin, (versão para Windows do Cinética 1.2) (Ruiz e Fernandes Filho, 1992). A Cmin foi estimada

pela média dos valores da concentração de fósforo na solução de exaustão, a partir do momento que tenderam a constância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores dos parâmetros cinéticos da absorção de P variaram com a concentração de magnésio na solução (Tabela 2). Na concentração de 2 mmol de Mg observa-se que o fósforo foi exaurido da solução em 120 horas (5 dias), e a Cmin atingiu 1,63 μmol de P (Figura 1). Na concentração de 0,02 mmol de Mg observa-se, que mesmo após oito dias as plantas não atingiram a Cmin. A concentração de fósforo na solução era igual a 23,26 $\mu\text{mol L}^{-1}$, após 192 horas (8 dias) de experimento. A concentração mínima (Cmin) representa o limite, abaixo do qual as plantas não conseguem absorver o íon da solução. Portanto, um aumento da Cmin representa uma redução da eficiência de absorção do nutriente (Epstein e Bloom, 2005). O Mg, quando em condições de baixo suprimento, foi totalmente exaurido da solução em 62 horas (Figura 3).

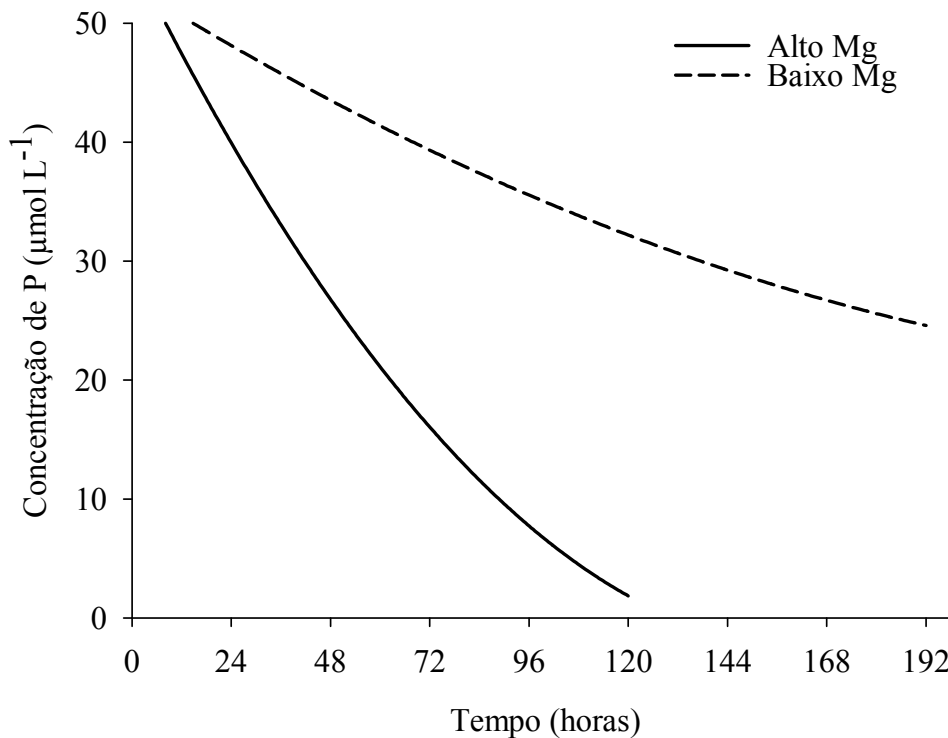


Figura 1 - Curva de depleção da concentração de P em solução nutritiva de cafeeiros em formação, submetidas a duas condições de suprimento de P (baixo - 0,02 mmol e alto - 2 mmol) durante 192 horas.

O Km, ou constante de Michaelis-Menten, foi maior (43,91 μmol de P) na condição de alto suprimento de Mg na solução (Tabela 2), enquanto em baixa disponibilidade de Mg o mesmo foi igual a 23,85 μmol . O Km representa a concentração do substrato em que o transporte atinge metade da velocidade máxima, de forma que quanto menor o Km, maior é a afinidade dos transportadores do íon. A afinidade com o substrato é um parâmetro importante na descrição de sistemas de transporte de íons envolvidos na absorção de nutrientes da planta (Wirén et al, 2000). Dessa forma, em condições de baixo suprimento de Mg a planta aciona um mecanismo de maior afinidade para absorção do fósforo, numa tentativa de aumentar a eficiência de absorção.

Tabela 2 - Parâmetros cinéticos de absorção de fósforo pelo cafeeiro submetidos a 2 doses de Mg.

Mg	Equações	R ²	Vmax ($\mu\text{mol}^{-1} \text{h}^{-1}$)	Km ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	C min ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
Baixo	$Q = 52,9972 * e^{(t*-0,007)}$	0,992	0,1758 b	23,85 b	23,26a
Alto	$Q = 62,1251 * e^{(t*-0,0246)}$	0,963	1,315 a	43,91 a	1,63b

A velocidade máxima de absorção de P na solução contendo 2 mmol de Mg foi oito vezes maior (1,3 $\mu\text{mol}^{-1} \text{h}^{-1}$) em relação àquela observada na solução que tinha 0,02 mmol (0,18 $\mu\text{mol}^{-1} \text{h}^{-1}$) (Tabela 2; Figura 2), o que significa maior

capacidade de absorção do íon fosfato, em condições de maior suprimento de magnésio. As raízes são capazes de alterar a cinética de absorção de um determinado íon aumentando a V_{max} , e dessa forma, tornam-se mais eficientes na absorção do íon (Schenk e Barber, 1979b, 1980; Andrade e Rosolem, 2011).

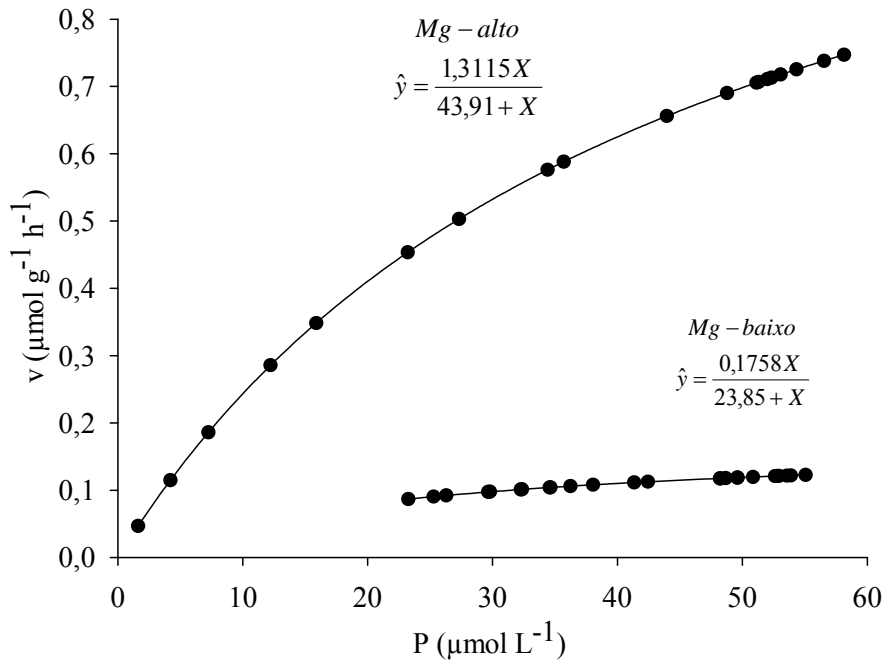


Figura 2 - Velocidade de absorção de fósforo por raízes de cafeeiros, em função da concentração de Mg na solução nutritiva.

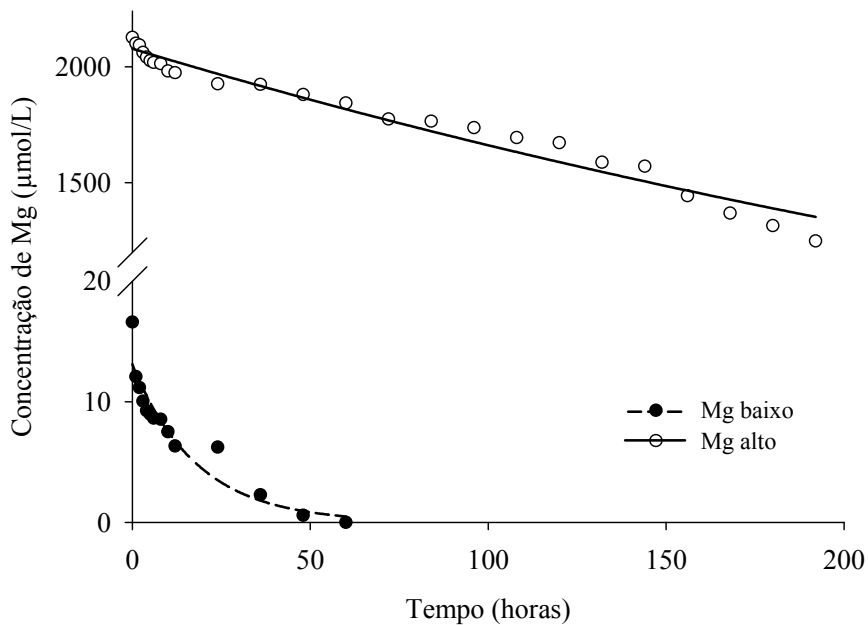


Figura 3 - Curva de depleção da concentração de Mg na solução nutritiva em mudas de cafeeiros, submetidos a 0,02 mmol (baixo) e 2 mmol (alto) de Mg.

CONCLUSÕES

A depleção do fósforo pelo cafeeiro ocorre em 120 horas e atinge a concentração mínima de 1,63 $\mu\text{mol L}^{-1}$ quando forneceu 2 mmol de Mg, enquanto sob 0,02 mmol desse cátion, as plantas não atingiram a C_{min}, mesmo após 192 horas de duração do experimento.

O fornecimento de 2 mmol Mg aumenta oito vezes a V_{max} e 84% a constante de Michaelis-Menten, quando comparado ao teor de 0,02 mmol de Mg.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, G.J.M.; ROSOLEM, C.A. Absorção de manganês em soja RR sob efeito do glifosate, *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 35: 961-968, 2011.
- BERGMANN, W. *Nutritional disorders of plants: development, visual and analytical diagnosis*. New York: G.F. Verlag, 1992, 741p.
- CAKMAK, I.; HENGELER, C.; MARSCHNER, H. Partitioning of shoot and root dry matter and carbohydrates in bean plants suffering from phosphorus, potassium and magnesium deficiency. *Journal of Experimental Botany* 45: 1245-50, 1994
- COWAN, J.A. Structural and catalytic chemistry of magnesium-dependent enzymes. *BioMetals* 15, 225-235, 2002.
- EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. *Mineral Nutrition of plants: principles and perspective*. 2ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2005. 400p
- ERICSSON, T.; KAHR, M. Growth and nutrition of birch seedlings at varied relative addition rates of magnesium. *Tree Physiology*, 15: 85-93, 1995.
- FAGERIA, V.D. Nutrient interactions in crop plants. *Journal of Plant Nutrition*, 2(8): 1269-1290, 2001.
- KNOOP, V.; GROTH-MALONEK, M.; GEBERT, M.; EIFLER, K.; WEYAND, K. Transport of magnesium and other divalent cations: Evolution of the 2-TM-GxN proteins in the MIT superfamily. *Mol Genet Genomics* 274: 205-216, 2005.
- LERCHL, J.; KONIG, S.; ZRENNER, R.; SONNEWALD, U. Molecular cloning, characterization and expression analysis of isoforms encoding tonoplast-bound proton-translocating inorganic pyrophosphatase in tobacco. *Plant Molecular Biology*, 29: 833-840, 1995.
- LILLEY, R.M.; HOLBOROW, K.; WALKER, D.A. Magnesium activation of photosynthetic CO₂-fixation in a reconstituted chloroplast system. *New Phytologist*, 73: 657-662, 1974.
- LOURENÇO, S.; CROCOMO, O. J.; NOGUEIRA, I. R.; MALAVOLTA, E. Kinetic studies on phosphorus uptake by excited roots of barley in the presence of magnesium. *Science*, 40:171-179, 1968.
- MAGUIRE, M.E.; COWAN, J.A. Magnesium chemistry and biochemistry. *Biometals*, 15:203-210, 2002.
- MALAVOLTA, E. *Manual de Nutrição Mineral de Plantas*. São Paulo, SP: Ed. Agronômica Ceres, 2006. 638p.
- MARSCHNER, H. *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 2nd ed. (London: Elsevier Academic Press). 2002, p.
- MARSCHNER, H.; CAKMAK, I. High light intensity enhances chlorosis and necrosis in leaves of zinc-, potassium- and magnesium-deficient bean (*Phaseolus vulgaris*) plants. *Journal of Plant Physiology*, 134: 308-315, 1989.
- NEPTUME, A. M. L. O magnésio como nutriente para as culturas. In: SILVA, M. C. (Coord). *P, Ca, Mg, S e micronutrientes: situação atual e perspectivas na agricultura*. São Paulo: MANAH, 1986. p. 74-82, 144p
- RUIZ, H. A.; FERNANDES FILHO, E. I. Cinética: software para estimar as constantes V_{max} e K_m da equação de Michaelis-Menten. In: Reunião brasileira de fertilidade do solo e nutrição de plantas, 20, 1992, Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: SBCS, 1992. p. 124-125.
- SHARIATMADARI, H.; MERMUT, A.R. Magnesium and Silicon Induced Phosphate Desorption in Smectic, Palygorskite and Sepiolite-Calcite Systems. *Soil Science Society of America Journal*, 63:1167-1173, 1999)
- TRUOG, EMIL; GOATES, R. J.; GERLOFF, G. C.; BERGER, K. C. Magnesium-Phosphorus Relationships in Plant Nutrition, *Soil Science*, 63 (1): 19-26, 1947.
- WIRÉN, N.; GAZZARRINI, S.; GOJON, A.; FROMMER, W.B. The molecular physiology of ammonium uptake and retrieval. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 3:254-261, 2000.