

# EFEITOS DA APLICAÇÃO DE REGULADORES VEGETAIS SOBRE O TEOR DE CLOROFILA DE FOLHAS DE *Lycopersicon esculentum* Mill.

Maria Bernadete Gonçalves Martins (IBILCE/ UNESP/São José do Rio Preto)  
Paulo Roberto de Camargo e Castro (ESALQ/ USP)

**Resumo:** O objetivo do trabalho foi verificar os efeitos dos reguladores  $GA_3$   $50\text{mg.L}^{-1}$ , NAA  $100\text{mg.L}^{-1}$ , CCC  $1500\text{mg.L}^{-1}$  e SADH  $3000\text{mg.L}^{-1}$  no teor de clorofila das folhas de *Lycopersicon esculentum* cv. Ângela Gigante. Os níveis de clorofila foram determinados, 20 dias após tratamento, em ambos os ensaios. Foi observado que as plantas não submetidas à aplicação de adubação adicional, tratados com  $GA_3$ , NAA e CCC, diminuíram o nível de clorofila a, b, e total quando comparado ao controle. SADH aumentou o nível de clorofila b e total, mas a aplicação adicional da adubação não modificou o nível de clorofila a, b e total nas plantas tratadas com NAA, CCC e SADH em relação ao controle. O tratamento com  $GA_3$  diminuiu o nível de clorofila a e total. Alterações observadas no metabolismo das plantas mostraram relação da nutrição mineral na formação da clorofila.

**Palavras-chave:** reguladores vegetais, clorofila, folha.

## 1. Introdução

Os efeitos fisiológicos de reguladores vegetais têm sido estudados visando ao avanço no conhecimento da ação estimulatória ou inibitória no crescimento e desenvolvimento das plantas. Porém, essa idéia vem sendo mudada com a evolução de novas pesquisas que têm demonstrado que as mudanças morfológicas da planta estão associadas a mudanças metabólicas, ou então que o estado nutricional da planta tem um importante efeito nas mudanças morfológicas induzidas por reguladores vegetais.

HALEVY & WITTWER (1965) observaram que CCC e SADH atrasaram a degradação de clorofila em plantas de feijoeiro cv. Contender sendo que as giberelinas induziram efeitos opostos, também interferindo no metabolismo da clorofila. WOLF & HABER (1960) observaram um decréscimo no conteúdo de clorofila em folhas de trigo quando tratadas com giberelina. O efeito do  $GA_3$  em promover aumento no crescimento da lâmina foliar causava deficiência na síntese de clorofila. Essa interpretação do  $GA_3$  como 'efeito de diluição' foi reforçada por BISHOP & WHITTINGHAM (1961) trabalhando com ervilhas e por HOFFMANN (1964) trabalhando com trigo.

ARTAMONOV (1966), ao aplicar  $GA_3$  em plantas de milho e beterraba açucareira, observou um decréscimo no teor de clorofila. GREBINSKII & PALANITSA (1970) notaram que o conteúdo de clorofila de folhas de várias plantas declinava sob influência de  $GA_3$ .

WITTWER & TOLBERT (1960) trataram raízes de tomateiros com CCC e observaram que as plantas desenvolveram coloração verde escura. A aplicação de SADH em plantas de macieira resultou na emissão de folhas com uma coloração verde mais escura (EDGERTON & HOFFMAN, 1965).

O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo das possíveis alterações no teor de clorofila em folhas de tomateiros tratados com diferentes reguladores vegetais. A adubação adicional concedida às plantas do 2º ensaio teve por objetivo verificar se houve alterações nos teores de clorofila em resposta à nutrição mineral.

## 2. Materiais e Métodos

Para se estudar a ação de reguladores vegetais na anatomia foliar e no teor de clorofila de tomateiros, instalaram-se dois experimentos, que foram conduzidos em casa de vegetação, no Horto Experimental do Departamento de Botânica, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", ESALQ-USP, Piracicaba (SP). Efetuou-se a sementeira em caixas de plástico, contendo terra esterilizada. Catorze dias após a sementeira, as mudas mais vigorosas foram selecionadas e transplantadas em vasos com capacidade de 12 litros de terra, constituída de uma mistura de solo argiloso, areia e matéria orgânica ( 2: 1:1), além da aplicação da adubação mineral complementar de N, P, K (12: 14: 8 ), 10 gramas por vaso. Foram aplicados semanalmente, o inseticida Folidol 1 ml .L<sup>-1</sup> de água e o fungicida Cobre Sandoz 15 g / 10 L de água. No segundo ensaio, após as mudas vigorosas serem transplantadas em vasos, além da adubação mineral complementar de N,P,K ( 12: 14:8) 10 g por vaso, foram efetuadas adubações adicionais por seis dias alternados, após o transplante com Nitrex + uréia 0,3 % + MS 3 15g/ 100 L de água; e após 40 dias do transplante com Nitrex MG 200 ml/ 100 L de água, além da aplicação de inseticida + fungicida semanalmente.

Em ambos os ensaios quando as plantas atingiram o estágio de 4 folhas definitivas, realizaram-se pulverizações com ( KGA<sub>3</sub> 2%, Gibrel), também denominado de GA<sub>3</sub> , na concentração de 50 mg.L<sup>-1</sup>; auxina ( NAA 20 % Nafusaku, da Okochi), ácido naftalenacético, NAA 100 mg. L<sup>-1</sup>; Chlormequat (Cycocel 50%, da Cyanamid ), cloreto ( 2- cloroetil) trimetilamônio, CCC 1500 mg. L<sup>-1</sup> e daminozide (Alar, 85 %, da Uniroyal), ácido succínico-2,2-dimetilhidrazida, SADH 3000 mg.L<sup>-1</sup>, além da testemunha. Foram utilizados o espalhante adesivo Novapal 0,1% em todas as soluções.

Nos dois ensaios, procurou-se manter a umidade dos substratos próxima à capacidade de campo, através de irrigações diárias. Os dados de microclima da casa de vegetação foram registrados em termohigrógrafo. O delineamento estatístico utilizado para os dois ensaios foi inteiramente casualizado, tendo-se cinco tratamentos com dez repetições.

O teor de clorofila foi determinado pelo método de ARNON (1949), realizado para o primeiro e segundo ensaio, aos 20 dias após o tratamento (D.A.T.), através da coleta da quarta folha adulta, proveniente de cinco plantas de cada tratamento, totalizando 25 amostras por ensaio. Para avaliação das concentrações de clorofila a e b, determinou-se a absorvância dos extratos em espectrofotômetro (Coleman Perkin-Elmer), nos comprimentos de onda 645, 652 e 663 nanômetros. Os teores de clorofila foram expressos em mg de clorofila / g de massa da matéria fresca. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e ao teste Tukey a 5% de probabilidade.

## 3. Resultados e Discussão

No primeiro ensaio observou-se um decréscimo no teor de clorofila a, b e total para os tratamentos com GA<sub>3</sub>, NAA e CCC, em relação à testemunha (Tabela 1). Plantas tratadas com SADH apresentaram folhas de coloração verde intensa e teores mais elevados de clorofila b e total. No segundo ensaio, observou-se que o teor de

clorofila b não foi alterado significativamente para os tratamentos quando comparados à testemunha (Tabela 2). Plantas tratadas com GA<sub>3</sub> apresentaram redução no teor de clorofila a e total quando comparados aos demais tratamentos. Não houve diferença significativa para os demais tratamentos em relação à testemunha. Este fato pode ser atribuído à adubação adicional realizada no segundo ensaio, provocando alterações no metabolismo da planta e na formação da clorofila.

A biossíntese de clorofila e o desenvolvimento de cloroplastos em plantas superiores envolvem claramente uma série de eventos correlacionados, muitos dos quais estão sujeitos à inibição por agentes químicos aplicados exogenamente. Uma variedade de mecanismos pode estar envolvida, inibindo a síntese de DNA, RNA e proteínas (WOLF, 1977). SESTAK & ULLMAN (1960) notaram um decréscimo no conteúdo de carotenóides de plantas tratadas com GA<sub>3</sub>, bem como no conteúdo de clorofila, sendo que a proporção de clorofila a/ clorofila b permaneceu inalterada. WOLF & HABER (1960), observaram um decréscimo no conteúdo de clorofila em folhas de trigo, quando tratadas com GA<sub>3</sub>. Eles concluíram que o efeito do GA<sub>3</sub> promovendo aumento do crescimento da lâmina foliar causava uma deficiência na síntese de clorofila. Essa interpretação da influência do GA<sub>3</sub> como "efeito de diluição" foi reforçada pelo experimento de BISHOP & WHITTINGHAM (1961), com ervilhas e de HOFFMANN (1964), com trigo.

WHEELER & HUMPHRIES (1963) observaram que o GA<sub>3</sub> aumentou o conteúdo de clorofila por folha, mas aumentou a área foliar de forma que a clorofila por unidade de área diminuiu, e as folhas tornaram-se mais pálidas do que as folhas não tratadas.

STUART & CATHEY (1961) observaram que as folhas de plantas tratadas com GA<sub>3</sub> são mais pálidas que as não tratadas. Esse resultado atribui-se geralmente à diluição de pigmentos, pois a síntese de clorofila não ocorre no mesmo ritmo que o aumento da expansão de células e órgãos provocados pelo GA<sub>3</sub>. ARTAMONOV (1966), ao aplicar GA<sub>3</sub> em beterraba açucareira e em milho, observou um decréscimo no teor de clorofila.

Estudos de ultra-estrutura, em cultura de tecido de tabaco, indicaram que o GA<sub>3</sub> inibiu a formação de tilacóides e a maturação do cloroplasto, mesmo na presença de luz (STETLER & LAETSCH, 1965). O mesmo foi observado em plântulas de *Raphanus* (STRAUB & LICHTENTHALER, 1973).

GREBINSKII & PALANITSA (1970) observaram que o conteúdo de clorofila das folhas de várias plantas declinou sob a influência de GA<sub>3</sub>. BUKOVAK & WITWER (1957) observaram que o conteúdo de clorofila nas folhas de tomateiros foi reduzido com GA<sub>3</sub>.

Neste trabalho, apesar de não ter sido observado alteração no tamanho dos folíolos de tomateiros, foi possível notar uma diminuição no teor de clorofila a, b e total provocados pelo tratamento com GA<sub>3</sub>. No entanto, notou-se que o efeito do GA<sub>3</sub>, na diminuição do teor de clorofila foi mais acentuado no primeiro ensaio do que no segundo. Deve-se aqui ressaltar que no segundo ensaio foi feita uma adubação adicional nas plantas, o que pode ter influenciado na formação da clorofila.

Neste presente trabalho, o tratamento com NAA, inibiu a síntese de clorofila a, b

e total. Quando as plantas receberam adubação adicional não se observou diferença significativa no teor de clorofila a, b e total, em relação à testemunha. A adubação adicional provavelmente alterou o metabolismo da planta e esta respondeu diferentemente ao tratamento com NAA.

HUMPHRIES (1963) observou que o teor de clorofila por folha e por unidade de área foi aumentado em plantas de tabaco crescidas em solução nutritiva contendo CCC. HALEVY & WITWER (1965) estudando plantas de *Phaseolus vulgaris* cv. *Contender* verificaram que o CCC e o SADH retardaram a degradação da clorofila. ZEEVAART (1964) observou que tratamentos com CCC em *Pharbitis* ocasionaram folhas de coloração verde escura. BUKOVAC & WITWER (1957) verificaram que o CCC aumentou o conteúdo de clorofila nas folhas de tomateiros.

Cotilédones de alface tratados com CCC apresentaram o conteúdo de clorofila reduzido em 75% (KNYPL & CHYLINSKA, 1972a, 1972 b). BERRY & SMITH (1970) observaram inibição de 95% da biossíntese de clorofila ao analisar seções foliares de cevada tratadas com concentrações elevadas de CCC.

GRENWALD (1972) observou que o conteúdo de carotenóides em folhas de feijoeiro decresce antes da perda da clorofila e considerou a descoloração pelo CCC como resultado da fotooxidação da clorofila.

No presente trabalho, aos 10 DAT, no primeiro ensaio, também foi observada a clorose nos bordos dos folíolos de plantas tratadas com CCC. Aos 20 DAT do mesmo ensaio, o teor de clorofila foi reduzido aproximadamente em 50 % quando comparado ao da testemunha. No segundo ensaio, considerando-se a adubação adicional, não foi observada clorose e não houve alteração no teor de clorofila em relação ao da testemunha.

A aplicação de SADH em folhas de diversas plantas apresentava como resultado uma coloração verde mais escura (EDGERTON & HOFFMAN, 1965; HALFACRE & BARDEN, 1968). Essa coloração verde mais intensa também foi observada nas folhas do tomateiro no presente trabalho.

Foi observado em fotomicrografia um aumento aparente nos cloroplastos visíveis e de pequenos espaços intercelulares. Baseados nessa observação, foi postulado que a cor verde escura das folhas das plantas tratadas com SADH estava associada com a concentração de clorofila nas células, particularmente nas células da camada paliçádica.

No presente trabalho foi confirmada a maior concentração de clorofila nas células do tecido paliçádico, provocado pelo efeito do SADH, causando a coloração verde escura das folhas.

No primeiro ensaio, aos 20 DAT, o tratamento com SADH promoveu um aumento significativo no teor de clorofila b e total em relação à testemunha e aos demais tratamentos. No entanto, quando se efetuou a adubação adicional (segundo ensaio), não houve diferença no teor de clorofila a, b e total entre o tratamento e a testemunha.

**TABELA 1.** Valores médios do teor de clorofila a, b e total, em mg de clorofila/g de peso fresco, da quarta folha de plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Ângela

Gigante, submetidas ao tratamento com reguladores vegetais (20 DAT), sem adubação.

Parâmetros			
Tratamentos	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila total
Testemunha	0,38 a	0,21 b	0,59 b
GA 50 mg.L <sup>-1</sup>	0,11 b	0,09 d	0,19 d
NAA 100 mg.L <sup>-1</sup>	0,13 b	0,13 c	0,27 c
CCC 1500 mg.L <sup>-1</sup>	0,13 b	0,13 c	0,26 c
SADH 3000 mg.L <sup>-1</sup>	0,40 a	0,71 a	1,11 a
F (trat) 5%	419,91 (*)	1324,59 (*)	1299,86 (*)
CV.	6,23	5,57	4,37

Médias seguidas de mesma letra, para colunas, não diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste Tukey .

**TABELA 2.** Valores médios do teor de clorofila a, b e total, em mg de clorofila/g de peso fresco, da quarta folha de plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Ângela Gigante, submetidas ao tratamento com reguladores vegetais (20 DAT), com adubação.

Parâmetros			
Tratamentos	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila total
Testemunha	0,15 ab	0,33 a	0,48 a
GA 50 mg.L <sup>-1</sup>	0,13 b	0,27 a	0,39 b
NAA 100 mg.L <sup>-1</sup>	0,16 a	0,28 a	0,44 ab
CCC 1500 mg.L <sup>-1</sup>	0,16 a	0,30 a	0,46 a
SADH 3000 mg.L <sup>-1</sup>	0,16 a	0,32 a	0,48 a
F (trat) 5%	3,87 (*)	2,58 (ns)	5,54 (*)
CV.	7,79	11,35	6,99

Médias seguidas de mesma letra, para colunas, não diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste Tukey .

#### 4. Conclusões

Plantas não submetidas à adubação adicional (primeiro ensaio), tratadas com GA, NAA e CCC, diminuíram o teor de clorofila a, b e total das folhas quando comparadas à testemunha. Houve aumento no teor de clorofila b e total para o tratamento com SADH, sendo que as folhas se apresentaram com uma coloração verde mais escura.

Com a adubação adicional (segundo ensaio), não houve alteração no teor de clorofila a, b e total em folhas tratadas com NAA, CCC e SADH em relação à testemunha. Plantas tratadas com GA apresentaram redução no teor de clorofila a e total em relação à testemunha, tornando-se mais pálidas.

#### 5. Referências Bibliográficas

- ARNON, D.I. 1949. Cooper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Lancaster; v. 24, n. 1, p. 1-15.
- ARTAMONOV, V.I. 1966. On the synthesis and decomposition of chlorophyll in plants under the influence of gibberellin and vitamin B<sub>2</sub>. **Soviet Plant Physiology**, New York, v. 13, p. 379-383.
- BERRY, D.R. & SMITH, H. 1970. The inhibition by high concentrations of (2-chloroethyl) trimethyl ammonium chloride (CCC) of chlorophyll and protein synthesis in excised barley leaf sections. **Planta**, Heidelberg, v. 91, p. 80-86.
- BISHOP, P. & WHITTINGHAM, C.P. 1961. Gibberellic acid and chlorophyll content of leaves of Meteor peas. **Nature**, London, v. 192, p. 576-577.
- BUKOVAC, M.J. & WITWERT, S.H. 1957. Gibberellin and higher plants, II: Induction of flowering in biennials. **Quarterly Bulletin of Michigan Agronomy Experimental Station**, v. 39, p. 650-660.
- EDGERTON, L.J. & HOFFMAN, M.B. 1965. Some physiological responses of apple to N-dimethyl amino succinamic acid and other growth regulators. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Geneva, v. 86, p. 28-36.
- GREBINSKI S.D. & PALANITSA, P.V. 1970. Effect of gibberellin on chlorophyll content in leaves and chloroplasts. **Soviet Plant Physiology**, New York, v. 17, n. 1, p. 149-150.
- GREENWALD, S.M. 1972. Some effects of 2-chloroethyl trimethyl ammonium chloride (CCC) on the chlorophyll and carotenoid content of Jack bean leaves. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 59, p. 970-971.
- HALEVY, A.H. & WITWERT, S.H. 1965. Chemical regulation of leaf senescence. **Quarterly Bulletin of Michigan Agronomy Experimental Station**, v. 48, p. 30-35.
- HALFACRE, R.G. & BARDEN, J.A. 1968. Anatomical responses of apple leaf and stem tissue to succinic acid 2, 2-dimethylhydrazida (Alar). **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Geneva, v. 93, p. 25-32.
- HOFFMANN, P. 1964. Die chlorophyllbildung in weizenkeimpflanzen unter dem Einfluss von Gibberellin und Huminsäure. **Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft**, v. 77, p. 124-133.
- HUMPHRIES, E.C. 1963. Effects of (2 chloroethyl) trimethylammonium chloride on plant growth, leaf area, and net assimilation rate. **Annals of Botany**. London, New Series 27, p. 107-117.
- KNYPL, J.S. & CHYLINSKA, K.M. 1972a. Chlorophyll accumulation and protein synthesis in lettuce cotyledons treated with growth retardants gibberellin and benzylaminopurine. **Zeitschrift fuer Pflanzenphysiologie**, Stuttgart, v. 66, p. 297-306.
- KNYPL, J.S. & CHYLINSKA, K.M. 1972b. The inhibitory effect of (2-chloroethyl) trimethylammonium chloride on chlorophyll and protein synthesis in lettuce cotyledons and its reversal by potassium. **Journal of Experimental Botany**, Eynsham, v. 23, p. 525-529.
- SESTAK, Z. & ULLMAN, J. 1960. The effect of gibberellic acid on the dynamics of chlorophyll synthesis in etiolated seedlings. **Biologia Plantarum**, Prague, v. 2, p. 43-47.
- STETLER, D.A. & LAETSCH, W.M. 1965. Kinetin induced chloroplast maturation in

- cultures of tobacco tissue. **Science**, Washington, v. 149, p. 1387-1388.
- STRAUB, V. & LICHTENTHALER, H.K. 1973. Die Wirkung von gibberellinsäure A und Kinetin auf die Bildung der Photosynthesepigmente. Lipochinone und anthocyane in *Raphanus*. **Zeitschrift fuer Pflanzenphysiologie**, Stuttgart, v. 70, p. 308-321.
- STUART, N.W. & CATHEY, H.M. 1961. The applied aspects of gibberellins. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 12, p. 369-394.
- WHEELER, A.W. & HUMPHRIES, E.C. 1963. Effect of gibberellic acid on growth, gibberellin content, and chlorophyll content of leaves of potato (*Solanum tuberosum*). **Journal of Experimental Botany**, Eynsham, v. 14, p. 132-136.
- WITTEW, S.H. & TOLBERT, N.E. 1960. (2-chloroethyl) trimethylammonium chloride and related compounds as plant growth substances, III: Effect on growth and flowering of the tomato. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 47, p. 560-565.
- WOLF, F.T. & HABER, A.H. 1960. Chlorophyll content of gibberellin treated wheat seedlings. **Nature**, London, v. 186, p. 217-218.
- WOLF, F.T. 1977. Effects of chemical agents in inhibition of chlorophyll synthesis and chloroplast development in higher plants. **The Botanical Review**, Bronx, v. 43, n. 4, p. 395-425.
- ZEEVAART, J.A.D. 1964. Effect of the growth retardant CCC on floral initiation and growth in *Pharbitis nil*. **Plant Physiology**. Lancaster, v. 39, 402-408.