

Alterações morfológicas e citológicas do cafeeiro (*Coffea arabica* L., var. *Bourbon* (B. Rodr.) Choussy) cultivado em solução nutritiva decorrentes das deficiências e excessos dos macronutrientes (*) (**)

WALTER R. ACCORSI E HENRIQUE P. HAAG
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

(*) Os autores agradecem à Fundação Rockefeller e ao Conselho Nacional de Pesquisas a ajuda em equipamento e material utilizados neste experimento.

(**) Trabalho aprovado pela X Reunião Anual da Sociedade Botânica do Brasil, realizada na Escola Nacional de Agronomia, no período de 18 a 24 de janeiro de 1959.

1. INTRODUÇÃO

Apesar de sermos os maiores produtores de café do mundo, poucos têm sido os trabalhos fundamentais em nutrição mineral publicados em nosso meio. O presente ensaio foi iniciado em 1956, cultivando o cafeeiro em solução nutritiva. Dentre alguns dos objetivos (HAAG, 1958), destacamos os seguintes para o presente trabalho:

1. Obter um quadro sintomatológico das deficiências e dos excessos dos macronutrientes.
2. Constatar se os diversos tratamentos afetavam a constituição histológico das folhas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Usámos mudas de *Coffea arabica* L., var. *bourbon* (B. Rodr.) Choussy) de seis meses de idade. As plantas foram cultivadas em solução nutritiva de HOAGLAND & ARNON (1950), modificada para os tratamentos que levaram excesso de macronutrientes. A composição das diversas soluções está representada no Quadro I. Para os micronutrientes usamos a quantidade igual à recomendada por HOAGLAND & ARNON (1950). As soluções foram renovadas semanalmente.

Após a permanência das plantas durante um mês em solução completa, foram as mesmas colocadas nos vasos com três níveis de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, a saber:

- a) nível *zero* caracterizado pela omissão de um desses elementos;
- b) nível *normal* com a solução completa de HOAGLAND & ARNON (1950) e
- c) nível de *excesso*, dose maior do que o nível normal.

Os tratamentos foram em número de 13, com 4 repetições.

Uma vez evidenciados os sintomas, colhemos as folhas para o estudo da estrutura anatômica. Os cortes transversais do limbo foram feitos nas áreas dos sintomas, com o auxílio do micrótomo de congelação Spencer, usando matriz de goma arábica, e com a espessura de 15 a 20 micros. Na montagem dos cortes usamos uma mistura de glicerina e água em partes

iguais. Em seguida, procedemos ao exame num microscópio Reichert.

Pareceu-nos interessante fazer acompanhar o estudo anatómico das fôlhas pela descrição dos seus sintomas visuais, a fim de tornar mais precisos os dados sobre a natureza da carência ou do excesso dos macronutrientes estudados.

Para maior uniformidade na anotação das côres, utilizá-mos o Atlas de los Colores de VILLALOBOS-DOMINGUEZ & VILLALOBOS (1947). O sistema de classificação e de anotação é o seguinte:

- a) a letra ou letras indicam a côr e seu matiz
- b) o número ou números dão-nos o valor da luminosidade
- c) o grau expressa a tonalidade do matiz.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. PLANTA TESTEMUNHA.

a) *Aspecto morfológico.*

As plantas testemunhas, que vegetavam em solução completa, tinham um desenvolvimento perfeitamente normal quanto ao crescimento de seus órgãos e a coloração das fôlhas novas era de um verde-claro (GGL-9-12^o) e a das maduras de um verde bem intenso (GGL-5-12^o).

b) *Estrutura da fôlha.*

Para melhor apreciação das modificações histológicas e citológicas decorrentes do experimento, daremos o essencial da estrutura do limbo, compreendendo apenas as epidermes e o mesofilo.

Epiderme superior. Consta de uma camada de células grandes, justapostas e de forma geralmente retangular e, menos vêzes, poligonais ou arredondadas. A parede externa dessas células é ligeiramente ondulada e provida de cutícula delgada.

Parênquima paliádico. Compõe-se apenas de uma fiada de células altas, perpendiculares à epiderme, unidas lateral-

mente, em quase toda a sua extensão, confinando pelo extremo inferior com as células do parênquima esponjoso.

Parênquima lacunoso. Formado de 5 a 6 extrato de células dispostas paralelamente à superfície do limbo e exhibe grandes lacunas.

Epiderme inferior. Em suas linhas gerais, é semelhante à superior, mas com células mais baixas e mais alongadas, isto é, com o eixo maior paralelo à superfície do limbo. Nas células do mesofilo e ocupando posição quase central, ocorria um corpúsculo arredondado, maior que os cloroplastos. Apresentava-se sem pigmentação; tinha aspecto poroso e dava a reação das graxas, pois dissolvia-se no éter e coloria-se com o Sudan IV.

3.2. PLANTA SEM NITROGÊNIO.

a) *Sintomas visuais.*

Após a omissão do nitrogênio na solução nutritiva as plantas acusaram desenvolvimento bastante retardado. As raízes se apresentavam abundantes e de coloração marfim (OOY-19-3^o). Não havia diferenciação das gêmeas laterais para a formação de galhos. O caule mostrava-se fino, de coloração verde-clara (L-14-8^o). Não havia desfoliação, e as folhas formavam um ângulo quase que reto em relação ao caule. Não constatamos alterações no formato das folhas.

Um mês após a ausência do nitrogênio, as folhas mais velhas começavam a exhibir na página superior uma coloração verde-clara (L-14-8^o) ao passo que na inferior ostentavam uma coloração amarelo-limão, sem brilho (L-9-12^o). À medida que a deficiência se acentuava, a clorose tomava conta da planta toda, isto é, todas as folhas apresentavam a mesma coloração já descrita. A clorose era uniforme por toda, não se ressaltando nem a nervura principal, nem as secundárias. Os sintomas observados por nós, concordavam com aqueles verificados por FRANCO & MENDES (1952), STRENGE (1954), CIBES & SAMUELS (1955) e LOUÉ (1957).

b) *Alterações anatômicas.*

Histologicamente, a estrutura do limbo não oferecia nenhuma particularidade. Entretanto, notávamos modificações relativas ao tamanho, forma, cô e número dos cloroplas-

tos no mesofilo foliar. Assim, os cloroplastos eram menos numerosos em ambos os parênquimas e de cor verde-clara, tocando ao amarelo. Em numerosas células do tecido paliçádico os cloroplastos não eram globulosos, mas aglutinados, produzindo massas alongadas um tanto irregulares. Ao lado desses tipos registrávamos cloroplastos fusiformes e arredondados. No parênquima lacunoso os cloroplastos eram de aspecto arredondado, tipo normal, porém de um verde-claro. Nas camadas seguintes notávamos que havia escassez de cloroplastos, fusiformes em sua maioria, pequenos, isolados ou então ligados pelas extremidades. Em diversos cloroplastos fusiformes notávamos uma fissura longitudinal.

O corpúsculo de matéria graxa ocorria em muitas células, de forma bem circular, porém de diâmetro reduzido.

AVERNA-SACCA (1926), constatou a existência de corpúsculos de matéria graxa em cortes feitos em sementes de café. ACCORSI (1949), estudando as células anexas dos estômatos em 517 espécies de *Rubiaceae*, anotou a presença de corpúsculos de matéria graxa em somente 7 das espécies observadas.

3.3. PLANTA COM EXCESSO DE NITROGÊNIO.

a) Sintomas visuais.

A série toda de plantas que vegetavam em solução nutritiva com excesso de nitrogênio, apresentava um ótimo desenvolvimento tanto da parte aérea, como do sistema radicular. O caule exibia uma coloração verde-escura (LG-8-5^o) sendo a característica principal o seu fendilhamento longitudinal. As folhas formavam um ângulo agudo em relação ao caule, devido talvez à alteração na relação C/N. Não havia desfoliação. As folhas ostentavam ao longo das margens, numa faixa de largura variável, uma ligeira alteração na cor verde. Na página dorsal, todavia, a cor verde era mais clara que na face central. A nervura principal, em quase toda a sua extensão, era de um verde esbranquiçado, em comparação ao verde da lâmina. Entretanto, as demais nervuras, 2.^{as}, 3.^{as}, destacavam-se do limbo por sua cor verde-intensa (LG-4-8^o).

b) Alterações anatômicas.

Notávamos que os cloroplastos exibiam, via de regra, uma coloração verde-escura, mais acentuada que a da folha tes-

temunha, e se apresentavam bem alterados. Assim, na quase totalidade das células do tecido paliçádico, os cloroplastos eram aglutinados, formando uma massa única, de aspecto irregular. Fato idêntico verificávamos em muitas das células da camada subjacente ao paliçádico.

No lacunoso, as alterações dos cloroplastos se relacionavam com o forma; uns eram fusiformes, outros bastonetes alongados, retos ou recurvados, às vezes unidos em número variável pelas extremidades, constituindo verdadeiros rosários. Poucas eram as massas de cloroplastos.

O corpúsculo de matéria graxa ocorria em quase tôdas as células, variando muito de tamanho, havendo mais de um em algumas células do mesofilo.

3.4. PLANTA SEM FÓSFORO.

a) *Sintomas visuais.*

Os sintomas apareciam 5 meses após a omissão do elemento na solução nutritiva. Em tôda série de plantas o crescimento se reduzia ao mínimo, quase paralizando. As raízes apresentavam uma coloração amarelo-laranja (O-16-12°). Havia intensa queda das fôlhas mais velhas. As fôlhas manifestavam uma clorose nas adjacências das nervuras principal e secundárias, a ponto de dividir o limbo em pequenas áreas de coloração amarelo-bronzeada (YYO-14-10°), áreas essas que, à medida que se acentuava a carência, se convertiam em marrom-escura (OOS-5-10°). Devido ao contraste de côres, as regiões correspondentes às nervuras tornavam-se bem delimitadas. Os sintomas por nós observados concordavam muito bem com os de FRANCO & MENDES (1952) e LUNÉ (1957), mas discordavam em parte com os de CIBES & SAMUEL (1955) e MENARD (1956).

b) *Alterações anatômicas.*

Nas áreas correspondentes à clorose intensa, verificámos considerável redução no número e no tamanho dos cloroplastos, tanto no paliçádico como no lacunoso. Os cloroplastos, em sua quase totalidade, ostentavam tamanho diminuto e exibiam forma globulosa, elipsóidica, granular, permanecendo ora isolados ora reunidos. Todavia, a constituição histológica das áreas afetadas não oferecia nenhuma alteração na morfologia de suas células. Dignos de nota eram os corpúsculos

de matéria graxa, que se sobressaiam pelo tamanho e pela coloração amarelo-esverdeada, oblongos, ligeiramente estrangulados na região central, e alguns exibiam prolongamentos como se fossem pseudopódios. A superfície ora era lisa, ora crivada de numerosos orifícios (poros) e neste caso assemelhavam-se às placas crivosas dos vasos liberianos. MENARD (1956), observou corpúsculos idênticos em *Coffea arabica* L., var. Caturra, K.M.C.

3.5. PLANTA COM EXCESSO DE FÓSFORO.

a) *Sintomas visuais.*

Os sintomas apareciam dois meses após termos adicionado o excesso à solução nutritiva. As plantas apresentavam um bom desenvolvimento não paralizando o seu crescimento, com formação de galhos. O sistema radicular mostrava-se atrofiado, de cor marrom-escura (SO-2-9^o). Nas folhas os sintomas apareciam primeiramente nas mais velhas. Consistiam do seguinte: uma clorose que se iniciava nas adjacências das nervuras, principal e secundárias, em toda a sua extensão, de tal sorte que a porção verde do limbo ficava reduzida a uma série de áreas, confinadas pelas respectivas nervuras. À medida que a clorose se acentuava, as áreas já afetadas mudavam de tonalidade, adquirindo coloração marrom, idêntica à das raízes (SO-2-9^o). A área marginal que ia do meio à ponta do limbo, possuía numerosas manchas marrom-claro, de tamanho, forma, posição variáveis e de contorno irregular. Na face inferior do limbo, notávamos as mesmas características acima descritas, porém, as manchas marrons que se distribuíam pelas áreas marginais e as porções cloróticas, eram mais claras, isto é, menos vivas. Os sintomas por nós observados discordavam porém dos obtidos por MENARD (1956).

b) *Alterações anatômicas.*

O exame do mesofilo mostrava as seguintes alterações, consoante à zona estudada.

1 — Zona verde. As células ofereciam aspecto normal. Contudo, os cloroplastos, notadamente no tecido paliádico, mostravam alterações no tamanho e na forma. Alguns estavam aglutinados, formando massas; outros estavam fragmentados, transformados em grânulos. Os cloroplastos existentes

nas células do lacunoso apresentavam geralmente a forma de bastonetes, e de fuso. O corpúsculo de matéria graxa exibia forma normal, circular, porém de vários diâmetros e crivado de pequenos poros.

2 — Zona clorótica. Nesta, as alterações já assinaladas se acentuavam. A cor verde dos cloroplastos era bem desbotada e o número deles era maior, tanto no tecido paliçádico como no lacunoso. Nas parte tipicamente cloróticas os cloroplastos transformavam-se em grânulos amarelos, muito pequenos, de forma irregular.

O corpúsculo de matéria graxa continuava presente e, às vezes, ocorriam dois ou três, com tamanhos diversos, em cada célula.

3 — Área marrom — Aqui, as alterações eram mais profundas uma vez que os tecidos estavam mortos, as células de forma irregular, membranas tortuosas, conteúdo celular pardacento, cloroplastos desorganizados, em pequeno número, esparsos e muito irregulares na forma. Os corpúsculos de matéria graxa apresentavam em algumas células, contudo, exibiam tamanhos diversos e irregulares.

3.6. PLANTA SEM POTASSIO.

a) *Sintomas visuais.*

A série toda de plantas que passavam a vegetar em solução nutritiva sem potássio não apresentavam sintomas típicos. As plantas paralizavam o seu crescimento, tornavam-se flácidas, talvez devido, segundo ECKSTEIN et al. (1937), à carência de tecido de sustentação. As raízes mostravam-se atrofiadas, de cor cinzento-escuro (OOS-7-1^o), chegando mesmo a se destacar da planta. Sintomas idênticos foram observados por JACOB (1955) e ECKSTEIN et al. (1937).

b) *Alterações anatômicas.*

Histologicamente assemelhavam-se às da folha com excesso de potássio, porém com maior número de cloroplastos, de cor quase normal. As alterações ocorriam nos cloroplastos, principalmente na sua forma. Nas células do paliçádico encontrávamos agregados de cloroplastos formando massas de vários tamanhos que chegavam a ocupar quase toda a cavidade celular. Na mesma célula, ao lado de massas

de cloroplastos, podiam ocorrer granulações verdes provenientes da fragmentação ou segmentação de cloroplastos. Menos pronunciadas eram as alterações dos cloroplastos das células do tecido lacunoso. As poucas aglutinações que ocorriam eram de tamanho pequeno. Mais comuns eram as formas de bastonetes cilíndricos ou recurvados, isolados ou reunidos. Nos cortes feitos em folhas de *Dactylis glomerata* (ECKSTEIN et al. (1937), observaram alterações idênticas às observadas por nós.

Os corpúsculos de matéria graxa nas células de cloroplastos alterados, variavam no tamanho, na forma e no número. Algumas possuíam 2 a 3 corpúsculos com diâmetros diferentes.

3.7. PLANTA COM EXCESSO DE POTÁSSIO.

a) Sintomas visuais.

Os sintomas se evidenciavam cinco meses após a adição do excesso de potássio na solução nutritiva. As plantas tinham o seu crescimento paralisado por completo, não havendo formação de novas folhas. O sistema radicular atrofiava-se e ostentava uma coloração marrom-escura (00S-5-10^o). Sintomas idênticos foram observados por Jacob (1938), citado por HAARER (1956 — pág. 224), em *Coffea arabica*. As folhas apresentavam uma aparência quase que normal, revelando apenas uma ligeira clorose na base do limbo, de forma triangular e que abrangia parte do pecíolo. A nervura principal, em toda a sua extensão, mantinha-se como uma linha francamente clorótica, inclusive as porções do limbo que lhe eram imediatamente adjacentes. O ápice do limbo mostrava-se necrosado.

b) Alterações anatômicas.

As células do mesofilo tinham configuração normal. Os cloroplastos, entretanto, eram menos abundantes que nas folhas testemunhas, apresentavam-se mais amarelados e com alterações na forma. Essas modificações eram mais pronunciadas no tecido paliçádico do que no lacunoso, e se caracterizavam pela presença de cloroplastos reunidos em massas, de tamanho diversos, ou então com a forma de bastonetes quer isolados, quer reunidos pelos extremos, em número variável, ou ainda fusiformes. Ao lado das formas alteradas

ocorriam formas normais de cloroplastos, em pequena porcentagem. No tecido lacunoso os cloroplastos mostravam-se modificados na forma, todavia, não chegavam a formar agregados como no paliçádico. O corpúsculo de matéria graxa era bem desenvolvido, ocupando o centro da célula. Sua cor era de um verde-claro. O contorno não era bem circular, revelando alguns prolongamentos como se fossem pseudopódios.

3.8. PLANTAS SEM CÁLCIO.

a) *Sintomas visuais.*

Os sintomas da carência de cálcio apareciam dois meses após a transferência do cafeeiro para a solução nutritiva sem cálcio. O primeiro sintoma era a morte da gema apical e paralização no crescimento das plantas. O sistema radicular mostrava-se atrofiado, com uma coloração marrom-escura e de constituição gelatinosa. BAUMEISTER (1952), observou alterações idênticas no sistema radicular em *Pinus pinaster*. As folhas mais novas apresentavam manchas bronzeadas (OOS-11-7°), dispostas na face superior das folhas e delimitadas pelas nervuras principal e secundárias, as quais se mantinham verdes. Na porção mediano inferior do limbo, as manchas eram maiores e de cor mais acentuada do que as da porção mediana superior, chegando até o bordo foliar; em certos trechos da margem, numa região, notávamos um começo de necrose, com coloração pardo-escura (SO-3-3°). A face dorsal das folhas mostrava-se também manchada, porém menos intensamente que a superior e isso talvez mais por efeito da transparência do limbo do que propriamente devido a alterações histológicas, conforme podíamos observar do exame da estrutura do limbo. Os sintomas observados por nós concordavam bem com aqueles obtidos por FRANCO & MENDES (1949), STRENGE (1945), CIBES & SAMUELS (1955), e LOUÉ (1957).

b) *Alterações anatômicas.*

As alterações histológicas manifestavam-se, a princípio, em algumas células do tecido paliçádico, em correspondência com as áreas bronzeadas da face superior da folha. Nas células em que se estavam manifestando as alterações, os cloroplastos perdiam a cor verde, tornavam-se esmaecidos, aglutinavam-se, formando massas irregulares. A seguir, as células apresen-

tavam-se como que plasmolizadas, contraídas, de contorno irregular e com o conteúdo celular de coloração pardacenta. Nessa fase, os cloroplastos constituíam uma massa compacta. Embora as alterações ocorressem nas células do paliçádico, a epiderme não apresentava nenhuma modificação morfológica nesse estágio do desenvolvimento dos sintomas. Contudo, era de se esperar que aumentando o número de células afetadas, a área epidérmica correspondente também se modificasse. KALRA (1956), observou alterações idênticas em fôlhas de tomateiro, cultivado em solução nutritiva na ausência de cálcio. No parênquima lacunoso as alterações ocorriam em algumas células situadas próximo ao paliçádico, outras nas imediações da epiderme inferior e havia ainda células alteradas ao redor das nervuras de diversas ordens. O restante do tecido tinha a aparência normal, mostrando algumas células o corpúsculo de matéria graxa, de tamanho normal.

Alguns cloroplastos, embora de cor verde, não tinha configuração típica, principalmente quanto a superfície, cujo aspecto era granuloso. Outros ofereciam a impressão de que estavam se fragmentando em numerosos grânulos.

3.9. PLANTAS COM EXCESSO DE CÁLCIO.

a) Sintomas visuais.

As plantas que vegetavam em solução contendo o excesso de cálcio, mesmo após 10 meses não apresentavam sintomas do excesso do elemento. As plantas ostentavam um bom desenvolvimento, tanto da parte aérea, como do sistema radicular, superior ao da testemunha. As raízes desenvolviam-se ótimamente tanto em comprimento, como em número, o que não era de se admirar, pois é conhecido o efeito benéfico do cálcio para o sistema radicular. SOROKIN & SOMMER (1940), cultivaram *Pisum sativum* em solução nutritiva com diversos teores de cálcio e constataram o efeito benéfico da maior concentração de cálcio sobre o sistema radicular. As fôlhas revelavam apenas um ligeiro esmaecimento do verde o qual se tornava mais pronunciado numa faixa correspondente à nervura principal, a partir da base das fôlhas, prolongando-se um pouco além do meio da lâmina foliar. O esmaecimento do verde era mais acentuado na face inferior da fôlha.

As fôlhas apresentavam ainda consistência coriácea, devido, provavelmente, ao grande aumento no teor de pectato.

de cálcio, que é um dos principais constituintes da lamela celular CURTIS & CLARK (1950), MILLER (1957).

b) *Alterações anatômicas.*

Do exame dos cortes transversais das folhas verificámos, de início, que os cloroplastos do tecido lacunoso eram de um verde mais claro que os do paliçádico. Em certos trechos do mesofilo, os cloroplastos apresentavam modificações na forma, no tamanho e no número.

No tecido lacunoso, os cloroplastos afetados eram muito pequenos, como grânulos, ou com forma de bastonetes retos. O corpúsculo de matéria graxa ocorria nas células do mesofilo com vários tamanhos e alguns com modificações ligeiras na forma.

3.10. PLANTA SEM MAGNÉSIO.

a) *Sintomas visuais.*

Na solução nutritiva sem magnésio a série de plantas evidenciava a carência desse elemento após 2 meses; apresentavam um bom desenvolvimento, sem paralização do seu crescimento. O caule exibia uma coloração normal verde-clara (LLY-19-12^o). As raízes mostravam-se normais em relação as da testemunha. Havia intensa queda das folhas mais velhas, onde se iniciavam os sintomas. Nas folhas inferiores, de início notávamos um verde ligeiramente desbotado no limbo, com tendência à clorose, principalmente na orla das folhas. Numerosas e pequenas manchas, de um amarelo alaranjado (Y-19-12^o), grupadas irregularmente, dispunham-se numa faixa marginal, a partir do ápice foliar estendendo-se até um pouco além do meio dos bordos do limbo. Ocorriam, ainda, algumas manchas menores que mais se assemelhavam a pontinhos. Havia próximo do ápice, quase no bordo foliar, uma grande mancha de coloração marrom-escura, de forma irregular. A página inferior do limbo era de um verde mais claro que o da face superior e as manchinhas marginais eram aí pouco nítidas, distinguido-as melhor quando observávamos o limbo contra a luz; entretanto, a mancha maior (área necrosada) era bem visível. Os sintomas por nós observados concordavam com os obtidos por CIBES & SAMUELS (1955) e LOUÉ (1957), mas discordavam com os de FRANCO & MENDES (1949).

b) *Alterações anatômicas.*

Ao que tudo indicava, as manchas menores e situadas por dentro da faixa marginal, como agregados de manchinhas resultavam das alterações das células epidérmicas, cujo conteúdo era de coloração ligeiramente marrom. Em correspondência a esse trecho, o mesofilo estava muito pouco modificado, com alguns cloroplastos de coloração amarelada, resultando desse fato o esmaecimento do verde na área das manchas. Alterações mais profundas notávamos nas áreas mais afetadas pelos sintomas de carência de magnésio, nas quais, além dos sintomas da epiderme já mencionados, o mesofilo mostrava suas células bem alteradas, protoplasma desorganizado e de cor marrom.

Nas células parcialmente alteradas, os cloroplastos não se aglutinavam, embora um tanto descolorados. Esse fato verificamos mesmo na células adjacentes àquelas que estavam desorganizadas e que pertenciam à área das manchas.

Em todas as células do mesofilo havia o corpúsculo de matéria graxa, de forma arredondada, semelhante a um disco crivado.

Em algumas nervuras, o floema possuía a mesma cor das células epidérmicas alteradas. Havia trechos do mesofilo em que as alterações eram totais e muito se pareciam com as modificações descritas para a folha com excesso de enxofre, como veremos adiante. De uma certa fase em diante, os sintomas se assemelhavam entre si e isso porque as células já estavam entrando na fase de necrose.

3.11. PLANTA COM EXCESSO DE MAGNÉSIO

a) *Sintomas visuais.*

Os sintomas se evidenciaram somente sete meses após a adição de excesso de magnésio à solução nutritiva. As plantas paralizaram o crescimento por completo, não havendo entretanto queda das folhas. O excesso de magnésio afetava mais o sistema radicular que se atrofiava completamente, apresentando-se com uma coloração verde-clara (OY-19-90). As folhas manifestavam uma coloração verde-clara. Os sintomas por nós observados, concordavam com os obtidos por Jacob (1938), citado por HAARER (1956).

b) *Alterações anatômicas.*

Do exame microscópico dos cortes transversais do limbo, podíamos observar que os cloroplastos apresentavam-se de um verde mais claro que os da testemunha. Em quase tôdas as células do tecido paliçádico os cloroplastos estavam mais ou menos aglomerados, resultando daí massas irregulares, um tanto alongadas.

No tecido lacunoso, via de regra, os cloroplastos conservavam sua forma, mas estavam unidos pelas extremidades, formando verdadeiros rosários.

Todavia, encontrávamos no mesofilo todos os graus de alterações, desde células com cloroplastos normais, até células com as modificações assinaladas.

O corpúsculo de matéria graxa conservava, em muitas células, sua forma normal; em outras, entretanto, apresentavam modificações no contórno.

3.12. PLANTA SEM ENXOFRE.

a) *Sintomas visuais.*

Nove meses após a omissão do enxofre da solução nutritiva, as plantas mostravam sintomas de carência dêste elemento. Não havia paralização no crescimento, nem havia queda das folhas. O sistema radicular mostrava-se bem reduzido. THOMAS (1958) e MILLER (1957), observaram sintomas idênticos em outras culturas. As folhas mais novas exibiam uma coloração verde-clara (YL-15-10^o) na página superior. Notávamos uma faixa clorótica que abrangia a nervura principal até um pouco além da metade do limbo e atingia, também, os começos das nervuras secundárias e suas adjacências. A face inferior da folha era bem mais clara do que a superior e se apresentava com uma coloração verde-citrina (YL-17-12^o).

O sintomas por nós observados concordavam bem com os de FRANCO & MENDES (1949), STRENGE (1954) e LOUÉ (1957).

b) *Alterações anatômicas.*

Ao exame microscópico podíamos observar que os cloroplastos possuíam realmente uma coloração verde-clara. As modificações ocorriam nos cloroplastos, principalmente nos

alterações verificavam-se, ainda, porém em grau menor, na primeira camada do tecido lacunoso, em contato com o paliádico. No restante do tecido lacunoso, os cloroplastos mostravam-se mais ou menos alterados na forma, havendo, entretanto, certa porcentagem de cloroplastos normais. Alterações idênticas foram observadas por WEDIN & STRUCKMEYER (1958), em cortes feitos nas folhas de *Nicotiana tabacum* L., deficientes em enxofre.

3.13. PLANTA COM EXCESSO DE ENXOFRE.

a) Sintomas visuais.

As plantas cultivadas em excesso de enxofre, após um mês, já acusavam sintomas nas folhas mais velhas. As plantas, contudo não paralizavam o crescimento e havia formação de galhos. O sistema radicular mostrava-se bem desenvolvido e de uma coloração marfim (OOY-19-3°). As folhas revelavam uma séria de manchas nos bordos de limbo, com formas e tamanhos diversos. O ápice e suas adjacências apresentavam-se inteiramente de coloração marrom (OOS-9-9°). EATON (1942), observou sintomas idênticos em feijoeiro, algodoeiro e tomateiro, cultivados em vasos com excesso de enxofre. Ao redor das manchas, o limbo mostrava-se ligeiramente amarelado e em algumas folhas havia uma espécie de frizo amarelo. Além das manchas dos bordos, havia outras nas suas imediações, menores, mais claras, de coloração ferruginosa. Ocorriam ainda pequenas manchas como pontos de coloração amarela, sendo bem possível uma fase inicial dos sintomas. Havia sobre algumas manchas, principalmente nas da porção mediano superior do limbo, outras pequenas, que se destacavam do fundo marrom porque eram um pouco mais claras. Ao que tudo indicava, a princípio se formavam as manchas pequenas, de cor ferruginosa e depois, a área do limbo entre elas ia se tornando amarelada, finalmente tornavam-se marrom (OOS-17-11°) formando, então, as grandes áreas.

Na face inferior do limbo apareciam os mesmos sintomas, embora menos pronunciados. O restante do limbo oferecia aspecto e coloração normal.

b) Alterações anatômicas.

As áreas que correspondiam às manchas mostravam alterações que variavam de acordo com a intensidade dos sin-

tomas. Verificávamos, a princípio, que os cloroplastos do mesofilo, nas áreas pouco afetadas apresentavam-se com uma coloração verde-amarelada. No tecido paliádico eles eram mais unidos e em algumas células aglutinados, formando cordões verdes ao longo da membrana celular, ao passo que no lacunoso eles se conservavam mais isolados e de aspecto granuloso. O corpúsculo de matéria graxa ocorria em quase todas as células, eram bem grande e de contorno irregular. Alguns pareciam ser formados de numerosos grânulos menores e ofereciam uma superfície ora granulosa, ora cheia de pequenas cavidades ou canálculos de reduzidos diâmetros.

Na áreas mais afetadas, notávamos que havia perda gradativa da coloração verde, a configuração dos cloroplastos se modificava, as células perdiam a forma e nas regiões das manchas maiores o mesofilo estava completamente alterado. Algumas células apresentavam-se vazias, com membranas torcidas, deformadas, ao lado de outras com conteúdo celular de coloração marrom. A própria epiderme era afetada nos trechos onde os sintomas eram de maior intensidade, adquirindo, também coloração marrom. WEDIN & STRUCKMEYER (1958) observaram alterações celulares idênticas em *Nicotiana tabacum* L., cultivados em areia pura, aplicando 384 p.p.m. de SO_4 em excesso.

4. RESUMO E CONCLUSÕES.

No presente trabalho os nossos intuítos foram:

1 — Obter um quadro sintomatológico das deficiências e dos excessos dos macronutrientes;

2 — Constatar se os diversos tratamentos afetavam a constituição histológica das folhas.

Para isso, cultivamos as plantas na estufa, em solução nutritiva, com três níveis de cada elemento.

1 — *nível zero*, em que não fornecemos um dos macronutrientes (—N, —P, —K, —Ca, —Mg, —S).

2 — *nível normal*, solução de HOAGLAND e ARNON (1950), contendo todos os elementos (N, P, K, Ca, Mg e S).

3 — *nível de excesso*, dose maior do que no *nível normal*, o que veio a ser: N = 602 p.p.m., P = 83 p.p.m., K = 1.000 p.p.m., Ca = 280 p.p.m., Mg = 240 p.p.m., S = 256 p.p.m.

4.1. SINTOMAS DE CARÊNCIA E DE EXCESSO.

1 — Constatámos sintomas visuais bem característicos nos seguintes tratamentos: —N, —P, +P, —Ca, —Mg, —S e +S.

2 — Nos tratamentos +N, —K, +K, os sintomas não se apresentaram bem definidos.

4.2. ALTERAÇÕES ANATÔMICAS CAUSADAS DEVIDO À DEFICIÊNCIA E EXCESSO DOS MACRONUTRIENTES.

As alterações mais acentuadas ocorreram nos tratamentos +P, —Mg e +S. Os distúrbios ocorriam de um modo geral nos cloroplastos, principalmente na sua forma e no seu número. Nas células em que se manifestavam as alterações, os cloroplastos perdiam a cor verde, tornavam-se esmaecidos, aglutinavam-se, formando massas irregulares.

5. SUMMARY AND CONCLUSIONS.

The present work was carried out in order to study:

(1) the symptoms of deficiency and excess of macronutrients (N, P, K, Ca, S, Mg) in the coffee plant (*Coffea arabica* L. var. Mundo novo);

(2) the modifications induced by those treatments in the histological make up of the leaves;

(3) the effects of deficiency and excess on the growth and in the chemical composition of the plants.

Young coffee plants were grown in nutrient solution, three treatments being used, namely: complete solution (HOAGLAND & ARNON, 1950), deficient solution, in which a given element was omitted, and solution with 3 times the concentration of the element under study.

The main conclusions can be summarized as follows.

5.1. SYMPTOMS.

Clear cut symptoms of malnutrition were observed in the treatments: —N, —P, +P, —Ca, —Mg, —S and +S; the signals — and + stated respectively for deficient and excess level.

5.2. HISTOLOGICAL EFFECTS.

The most definite alterations took place in the treatments +P, —Mg and +S. Usually the characteristics of the chloroplasts were affected: loss of the green color and coalescence into irregular bodies.

6. BIBLIOGRAFIA.

- ACCORSI, W. R., 1949 — Características morfológicas, anatômicas e citológicas da epiderme inferior da folha das *Rubiaceae*, Lilloa, 26:5-59.
- AVERNA-SACCA, R., 1926 — As manifestações pathológicas que acompanham o desenvolvimento da broca *Stephanodores hampei* Ferr., nos fructos ou nas sementes do cafeeiro, Publ. n.º 15 da Secretaria da Agricultura, Comércio e Obras Públicas do Estado de S. Paulo.
- BAUMEISTER, W., 1952 — Mineralstoffe und Pflanzen wachstum, Verlag Von Gustav Fischer, Jena.
- GIBES, H. & G. SAMUELS, 1957 — Mineral deficiency symptoms displayed by sweet potato plants grown under controlled conditions, Agr. Exp. Sta. Univ. of Puerto Rico, Tech. paper 20.
- CURTIS, O. F. & D. G. CLARK, 1950 — An introduction to Plant Physiology, Mc Graw-Hill Book Company, New York.
- EATON, S. V., 1949 — Effects of phosphorus deficiency on growth and metabolism of sunflower, The Botanical Gazette, 100: 438-49.
- ECKSTEIN, O., A. BRUNO, J. N. TURRENTINE, 1937 — Kennzeichen des Kalimangels, Verlagsgesellschaft für Ackerbau, Berlin.
- FRANCO, C. M., H. C. MENDES, 1949 — Sintomas de deficiências minerais no cafeeiro, Bragantia, 9:165-173.
- HAAG, H. P., 1958 — Efeitos das deficiências e excessos de macronutrientes no crescimento e na composição do cafeeiro (*Coffea arabica* L. ver. *bourbon* (B. Rodr. Choussy) cultivado em solução nutritiva. Tese de doutoramento — 103 pág. mimeografada. Piracicaba.

- HAABER, A. E., 1956 — Modern coffee production, Leonard Hill Limited, London.
- HOAGLAND, D. D., D. I. ARNON, 1950 — The water-culture method for growing plants without soil. Calif. Agr. Exp. Sta., Berkeley, Calif., Circ. 347.
- JACOB, A., 1955 — KALI-gewinnung und anwendung der Kali DÜNGE-SALZE, Verlag J. NEUMANN-NEUDAMM, MELSUNGEN.
- KALRA, G. S., 1956 — Responses of the tomato plant to calcium deficiency, The Botanical Gazette, 118:18-37.
- LOUÉ, A., 1957 — Studies on the inorganic nutrition of the coffee tree in Ivory Coast, Publ. pelo International Potash Institute, Berne, Switzerland.
- MENARD, L. N., 1956 — Efeitos do fósforo e de alguns micronutrientes no crescimento e composição química do cafeeiro (*Coffea arabica* L., var. *Caturra*, K. M. C.) cultivado em solução nutritiva, Tese de doutoramento — 64 pág. mimeografados, Piracicaba.
- MILLER, E. V., 1957 — Chemistry of Plants, Reinhold Publishing Corporation, New York, U.S.A.
- SOROKIN, H. and A. L. SOMMER, 1940 — Effects of calcium deficiency upon the roots of *Pisum sativum*, American Journal of Botany, 27:308-318.
- STRENGE, H. V., 1954 — Kaffee — Anbau und Dúngung, Rhur-Stickstoff, Bochum.
- THOMAS, M. D., 1958 — Handbuch Der Pflanzenphysiologie, Vol. IX, SPRINGER-VERLAG, Berlin.
- VILLALOBOS-DOMINGUEZ, C., J. VILLALOBOS, 1947 — Atlas de los colores, Libreria El Ateneo, Buenos Aires, Argentina.
- WEDIN, W. F. & B. E. STRUCKMEYER, 1958 — Effects of chloride and sulfate ions on the growth, leaf burn, composition and anatomical structure of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.), Plant Physiology, 33:133-39.