

ACOMPANHAMENTO BIOQUÍMICO E NUTRICIONAL DA BABOSA (*Aloe vera* (L.) Burm. f.) CULTIVADA EM DOSES DE NITROGÊNIO

Enio Tiago de Oliveira¹, Otto Jesu Crocomo¹, Rafael Vivian², Luiz Antonio Gallo¹

¹ Laboratório de Biotecnologia de Plantas (CEBTEC), Depto. Ciências Biológicas, Cx. P. 9 ESALQ/USP, 13418-900, Piracicaba – S.P. E-mail: etolivei@esalq.usp.br

² Depto Produção Vegetal, Cx. P. 9 ESALQ/USP, 13418-900, Piracicaba – S.P

RESUMO

Plantas de babosa (*Aloe vera* (L.) Burm. f.), família Asphodelaceae, reconhecida e explorada mundialmente pela indústria farmacêutica e cosmética devido aos princípios medicinais de seus compostos fenólicos e principalmente ao gel de polissacarídeos específicos, foram micropropagadas e aclimatadas *ex vitro*. As mudas de *Aloe vera* assim obtidas foram cultivadas em areia lavada e irrigada com solução nutritiva, em condições controladas de casa de vegetação, onde foram testados os efeitos de doses (105; 210 e 315 ppm) de nitrogênio. Aos 90; 180 e 270 dias de cultivo foram avaliados os efeitos do nitrogênio sobre os teores foliares dos macronutrientes e proteínas totais solúveis (PTS), de açúcares redutores (AR) e açúcares totais solúveis (ATS). Todos os dados foram analisados estatisticamente por meio do modelo de análise de superfície de respostas. No desenvolvimento das plantas de *Aloe vera* em casa de vegetação, os teores mais elevados de nitrogênio foram observados em presença de 315 ppm de nitrogênio, aos 270 dias de cultivo. A dose de 105 ppm de nitrogênio favoreceu teores mais altos de potássio, cálcio, e enxofre aos 180 dias de cultivo. Os teores mais altos de fósforo e de magnésio foram observados em presença de 210 ppm de nitrogênio, aos 180 dias para o fósforo que se manteve elevado até o final do experimento e, para o magnésio, aos 90 dias de cultivo. Apesar de algumas variáveis responderem melhor à dose de 105 ppm e outras à dose de 315 ppm, a dose de 210 ppm de nitrogênio favoreceu as melhores respostas para os teores de açúcares totais solúveis (504,21 mgATS.g⁻¹ de MMS), que são diretamente relacionados ao conteúdo de polissacarídeos específicos, de interesse comercial da cultura de *Aloe vera*

Palavras-chave: Babosa, nitrogênio, nutrição de plantas, macronutrientes, proteínas, açúcares

BIOCHEMICAL AND NUTRITIONAL ASPECTS OF *Aloe vera* (L.) Burm. f. CULTIVATED UNDER NITROGEN RATES

ABSTRACT

Apical shoots of *Aloe vera* (L.) Burm. f., family Asphodelaceae, worldwide renowned and explored by pharmaceuticals and cosmetics industries due to its phenolics bearing medicinal principles and mainly to the specific polysaccharides present in the gel, were micropropagated followed by *in vitro* bud multiplication and *ex vitro* acclimatization of the microplants. These were cultivated in greenhouse in washed sand and irrigated with nutritive solution, in the presence of three nitrogen rates (105, 210 and 315 ppm); the plant material was harvested at 90-, 180- and 270-day. All data were statistically analyzed by the response surface analysis model. The effects of nitrogen were evaluated on the content of the macronutrients and total soluble proteins, reducing sugars, and total soluble sugars. The highest nitrogen values were observed at

270-day in the presence of 315 ppm N in the nutrient solution. At 180-day the highest values for K, Ca and S were obtained in the presence of 105 ppm N. On the other hand, under 210 ppm N, the highest value for P was observed at 180-day while for Mg it was at 90-day. Besides the fact that the best responses were observed either to 105 ppm or 315 ppm nitrogen by some variables, at 210 ppm nitrogen rates the best result was obtained for total soluble sugars (504.21 mg.g⁻¹DW); the sugars are directly related to specific polysaccharides of *Aloe vera* and are to the great importance for production system of this species.

Key words: *Aloe*, plant nutrition, nitrogen, macronutrients, proteins, sugars

INTRODUÇÃO

Aloe vera (L.) Burm.f., pertencente à família Asphodelaceae (Souza & Lorenzi, 2005), é popularmente conhecida no Brasil como babosa. O gênero *Aloe* compreende mais de 300 espécies catalogadas (Harding, 1979), contudo, poucas espécies como *Aloe vera*, *Aloe ferox* (Cape aloés) e *Aloe perryi* Baker (*Aloe* da ilha de Socotra), têm sido exploradas pelas indústrias farmacêutica e cosmética (Mapp & McCarthy, 1970; Morton, 1961). Segundo Reynolds & Dweck (1999), apesar de introduzida e estabelecida em diferentes regiões como oeste da Índia e Bahamas, sul dos EUA, México, América Central e Arábia, sua provável origem tenha sido nas ilhas Canárias, Madeira, Cabo Verde ou no norte da África.

As folhas do gênero *Aloe* funcionam como verdadeiros reservatórios de água, sendo a suculência de suas folhas e o metabolismo ácido das crassuláceas responsáveis pela sua natureza xerófita (Ni et al., 2004). Segundo estes autores, essas folhas consistem de duas partes, uma externa verde, denominada "rind", constituída basicamente pela epiderme, parênquima clorofiliano e feixe vascular, e outra interna, com parênquima mucilaginoso, espesso, denominado de polpa ou gel da folha.

Inúmeras atividades biológicas têm sido estudadas e atribuídas a *Aloe vera*, particularmente ao gel da polpa de suas folhas. Entre elas, atividades antiviral, antibacteriana e antifúngica, laxante, antiinflamatória, proteção contra radiação,

tratamentos contra queimaduras, estimulante do sistema imunológico, aceleração em cicatrizações de feridas, tratamento de edemas, adjuvante no tratamento de artrites, problemas gastrintestinais, úlceras, diabetes e até mesmo alguns tipos de câncer (Reynolds & Dweck, 1999).

Os princípios medicinais do gênero *Aloe*, até agora identificados, são atribuídos a compostos fenólicos e polissacarídicos. Entre os vários compostos fenólicos, destacam-se as aloínas (barbaloína e isobarbaloína), aloe-emodina, aloenina, aloesina, aloeresina e isoaloeresina (Okamura et al., 1996; Park et al., 1998). Quanto aos polissacarídeos, são polímeros constituídos principalmente de manose com ligações $\beta(1 \rightarrow 4)$. Entre os principais, destaca-se um polissacarídeo cujos resíduos de manose são acetilados e, por isso, denominado comercialmente de 'acemanan' (Leung et al., 2004).

Talvez, pelo fato de ser um mercado novo e emergente, e altamente promissor economicamente, a maioria dos processos da cadeia produtiva de *Aloe* são patenteados e as pesquisas, principalmente aquelas relacionadas a sistemas de cultivo como obtenção de mudas, e principalmente nutrição mineral, não têm oferecido suporte para condução do cultivo, ou pelo menos, não têm sido publicadas.

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo o acompanhamento bioquímico, e nutricional durante o desenvolvimento das plantas cultivadas em condições controladas de casa-de-vegetação,

sob três doses de nitrogênio. O nitrogênio faz parte de uma infinidade de compostos orgânicos tais como todos os aminoácidos e proteínas, enzimas e coenzimas, bases nitrogenadas e ácidos nucleicos, vitaminas, glicoproteínas, lipoproteínas, pigmentos e compostos secundários (Epstein & Bloom, 2004; Malavolta, 2006). Seu requerimento pelas plantas, em termos de quantidade, é maior do que qualquer outro nutriente essencial e sua falta limita o desenvolvimento de ecossistemas naturais e agrícolas. Excetuando o déficit hídrico, nenhuma deficiência é tão dramática em seus efeitos quanto a de nitrogênio. Clorose variegada, hábito estiolado e crescimento retardado são os sintomas mais característicos de sua deficiência (Malavolta, 2006).

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho, utilizando plantas de *Aloe vera* (L.) Burm. f. micropropagadas de acordo com metodologia descrita em Oliveira et al., (2007), foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia de Plantas (CEBTEC), do Departamento de Ciências Biológicas, da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Campus ESALQ / USP, em Piracicaba/SP, cultivo das plantas em presença de nitrogênio plantas de *Aloe vera*, micropropagadas, aclimatadas e padronizadas em relação ao estágio fisiológico de crescimento foram cultivadas em diferentes doses de nitrogênio. Todas as plantas foram submetidas ao cultivo em areia de granulometria média e irrigadas com solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), modificada de acordo com os objetivos dos experimentos. Foram testadas três doses de nitrogênio correspondentes aos tratamentos T₁, T₂ e T₃ com 105; 210 e 315

ppm, respectivamente. A composição química das soluções, a formulação original, as concentrações e as modificações realizadas, foram registradas (Tabela 1).

O experimento foi conduzido em casa de vegetação com sistema de exaustão de ar, coberta com plástico transparente de polietileno com tratamento anti-UV. A areia de granulometria média (0,25 a 0,5 mm), utilizada como suporte de cultivo, foi lavada com água do sistema de tratamento de água do Campus Luiz de Queiroz, acondicionada em vasos de polietileno de 15 litros com 12 litros de areia repassada com 15 litros de água purificada por osmose reversa, por vaso, para lixiviação de resíduos deixados pela água utilizada na lavagem da areia. Os vasos de cada tratamento foram irrigados com 600 mL de sua respectiva solução, em dias alternados, mantendo a areia sempre umedecida sem ocorrência de drenagem. A cada 15 dias foram repassados 5 litros de água purificada para drenagem do excesso de sais.

Coleta e preparo das amostras

As amostragens das plantas para análises de parâmetros químicos e bioquímicos foram realizadas aos 90 (tempo 1), 180 (tempo 2) e 270 (tempo 3) dias de cultivo. Os padrões das plantas utilizadas para início do experimento e a evolução do crescimento no momento de cada amostragem foram anotados (Figuras 1, 2, 3 e 4). Em cada amostra de cada tratamento, nos respectivos tempos de amostragem, foram determinados o incremento de massa de matéria fresca (IMMF), o incremento de massa de matéria seca (IMMS), os teores foliares de nitrogênio total, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, proteínas totais solúveis (PTS), açúcares totais (AT) e açúcares redutores (AR).

Tabela 1. Composição química das soluções nutritivas (macronutrientes em mM e micronutrientes mg.L⁻¹), adaptado de Hoagland e Arnon (1950) e modificada para testar o efeito nutricional de três doses Nitrogênio (N) sobre o desenvolvimento de plantas de *Aloe vera* (L.) Burm. f.

SOLUÇÕES	CONC.	T ₁			T ₂			T ₃		
		mMoles (Sal)	mMoles (N)	mMoles (Sal)	mMoles (Sal)	mMoles (N)	mMoles (Sal)	mMoles (N)	mMoles (N)	
KH ₂ PO ₄	M	1	-	1	-	1	-	-	-	
KNO ₃	M	-	-	-	-	-	-	-	-	
Ca(NO ₃) ₂	M	2,5	5	5	10	5	5	10	10	
MgSO ₄	M	2	-	2	-	2	-	2	-	
NaNO ₃	M	-	-	-	-	-	-	7,5	7,5	
NH ₄ NO ₃	M	1,25	2,5	2,5	5	2,5	2,5	5	5	
KCl	M	5	-	5	-	5	-	5	-	
CaCl ₂	M	2,5	-	2,5	-	2,5	-	2,5	-	
Micro**	mL	1	-	-	1	-	-	1	-	
Fe-EDTA***	mL	1	-	-	1	-	-	1	-	

Concentração geral dos elementos												
	T1(N)	T2(N)	T3(N)	Ca	Mg	S	B	Cu	Mn	Mo	Zn	Fe~
mM	7,5	15	22,5	5	2	2	0,05	2,9.10 ⁻⁴	0,009	1,1.10 ⁻⁴	7,3.10 ⁻⁴	0,086
ppm	105	210	315	200	48,6	64,2	0,5	0,02	0,5	0,01	0,05	4,82

* O tratamento T₂ corresponde à concentração original de Hoagland e Arnon (1950).

** Solução de micronutrientes tem a seguinte composição (g.L⁻¹): H₃BO₃ = 2,86; MnCl₂ · 4H₂O = 1,81; ZnCl₂ = 0,10; CuCl₂ · 2H₂O = 0,05; H₂MoO₄ · H₂O = 0,02

*** Solução de Fe-EDTA foi preparada segundo Jacobson (1951), dissolvendo-se 26,1g de EDTA-Na₂ em 286mL de NaOH 1N e 24g de FeSO₄ · 7H₂O, arejando-se por 12 horas no escuro e completando-se o volume a 1 litro.

As determinações químicas e bioquímicas foram realizadas na parte aérea da planta inteira (Figura 5) que foi pesada para determinação de massa matéria fresca (MMF) e colocadas para secagem até massa de matéria seca (MMS) constante. A seguir, o material vegetal foi moído em moinho tipo Wiley para obtenção de partículas homogêneas e acondicionado em frascos de vidro, devidamente tampados, identificados e armazenados em "freezer" a -20°C .

Determinação dos teores de nutrientes nas folhas

Os teores de nutrientes nas folhas, excetuando o enxofre, foram determinados segundo Sarruge e Haag (1974). Os teores de enxofre foram determinados segundo Vitti (1988). Os valores obtidos nas determinações colorimétricas e de absorção atômica foram calculados com base nas interpolações em curvas padrão específicas para cada elemento.

Determinação dos teores de proteínas totais solúveis (PTS)

Foi utilizado o método de Bradford (1976). para a determinação dos teores de PTS e a extração das proteínas foi feita em 100 mg de matéria seca em presença de 1,5 mL de tampão Tris-HCl, 50 mM, pH 7,5. Os teores de PTS foram calculados pela interpolação dos resultados na curva padrão de albumina de soro bovino (BSA). Os resultados foram expressos em mg de PTS.g^{-1} de MMS.

Determinação do teor de açúcares totais solúveis (ATS)

Os açúcares foram extraídos segundo metodologia descrita Dubois et al. (1956). A determinação do teor de ATS foi feita pelo método fenol-sulfúrico dos mesmos Autores e seus teores calculados pela interpolação

dos resultados na curva padrão de glicose. Os resultados foram expressos em $\text{mg de glicose.g}^{-1}$ de MMS.

Determinação do teor de açúcares redutores (AR)

A determinação do teor de AR, no mesmo extrato citado anteriormente, foi feita pelo método modificado de Somogyi & Nelson descrito por Nelson (1944). Os teores de AR foram calculados pela interpolação dos resultados na curva padrão de glicose. Os resultados foram expressos em $\text{mg de glicose.g}^{-1}$ de MMS.

Análise estatística

Os resultados dos efeitos das doses de nitrogênio durante o período de cultivo sobre as variáveis avaliadas, em delineamento inteiramente casualizado, foram analisados por meio do aplicativo "Statistical Analysis System" (SAS Institute, 1996) utilizando-se o modelo estatístico de superfície de resposta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito de doses de nitrogênio e tempo de cultivo sobre os teores de macronutrientes

Os fatores doses de nitrogênio (105; 210 e 315 ppm) e tempo (90; 180 e 270 dias de cultivo) foram significativos ($P < 0,05$) em relação aos teores de nitrogênio, fósforo, cálcio e magnésio na planta. Para os teores de potássio e enxofre apenas o fator tempo foi significativo ($P < 0,05$). Os teores de cada macronutriente, expressos em g.Kg^{-1} de massa de matéria seca (MMS), em cada tempo de cultivo e em cada dose de nitrogênio foram registrados (Tabela 2 e Figuras 6A, B, C, D, E e F) bem como os resultados das análises de superfície de resposta (Tabelas 3, 4, 5, 6, 7 e 8).

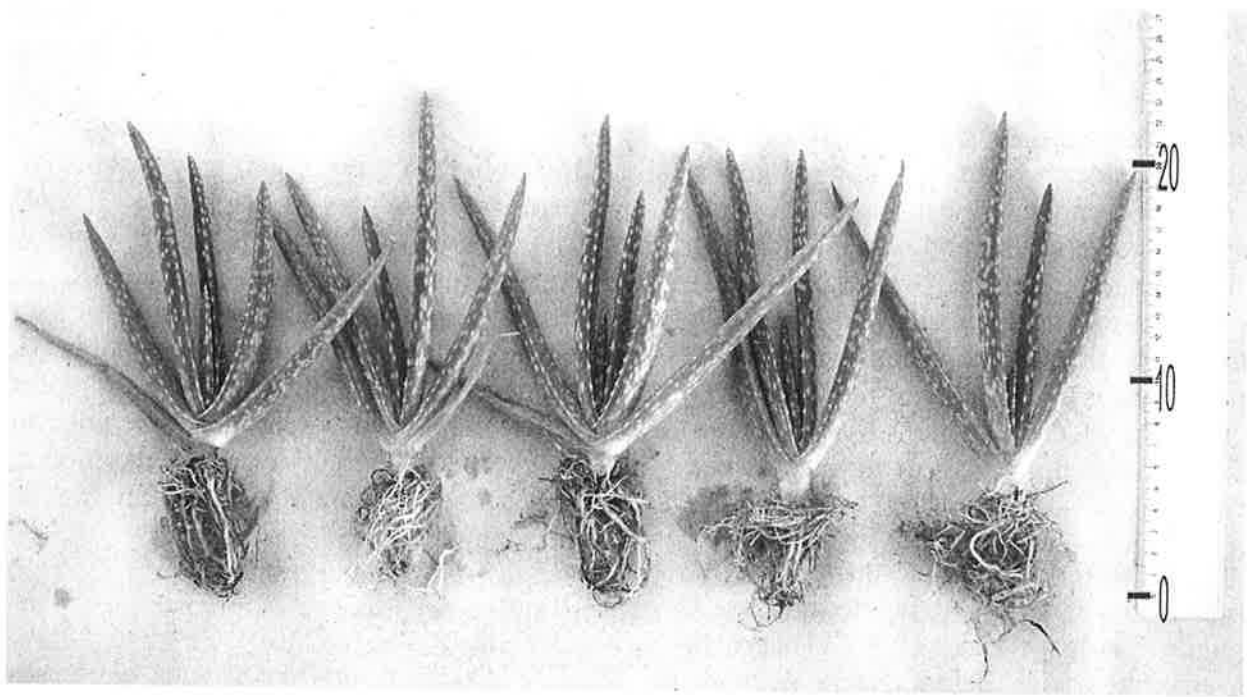


Figura 1. Padrão das plantas de *Aloe vera* no início do cultivo, em centímetros, em doses de nitrogênio

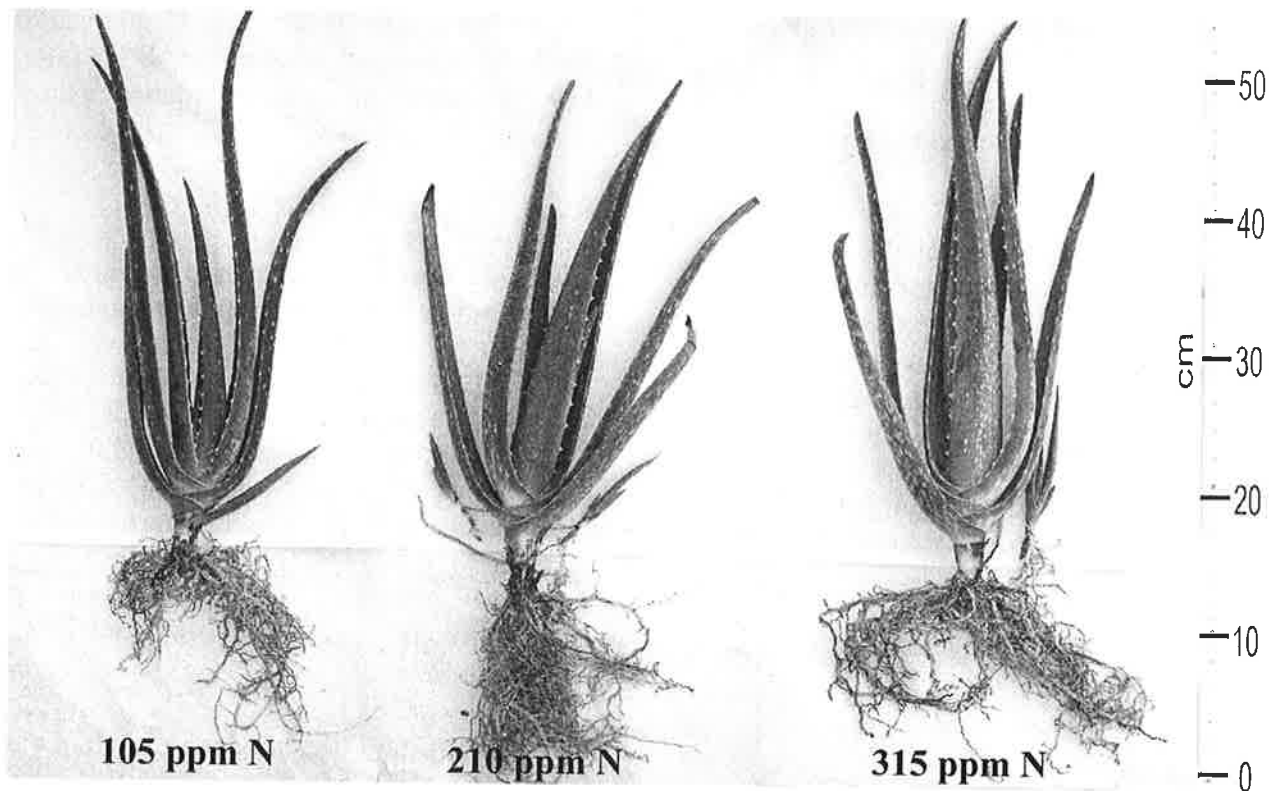


Figura 2. Padrão das plantas de *Aloe vera* aos 90 dias de cultivo em doses de nitrogênio (N)

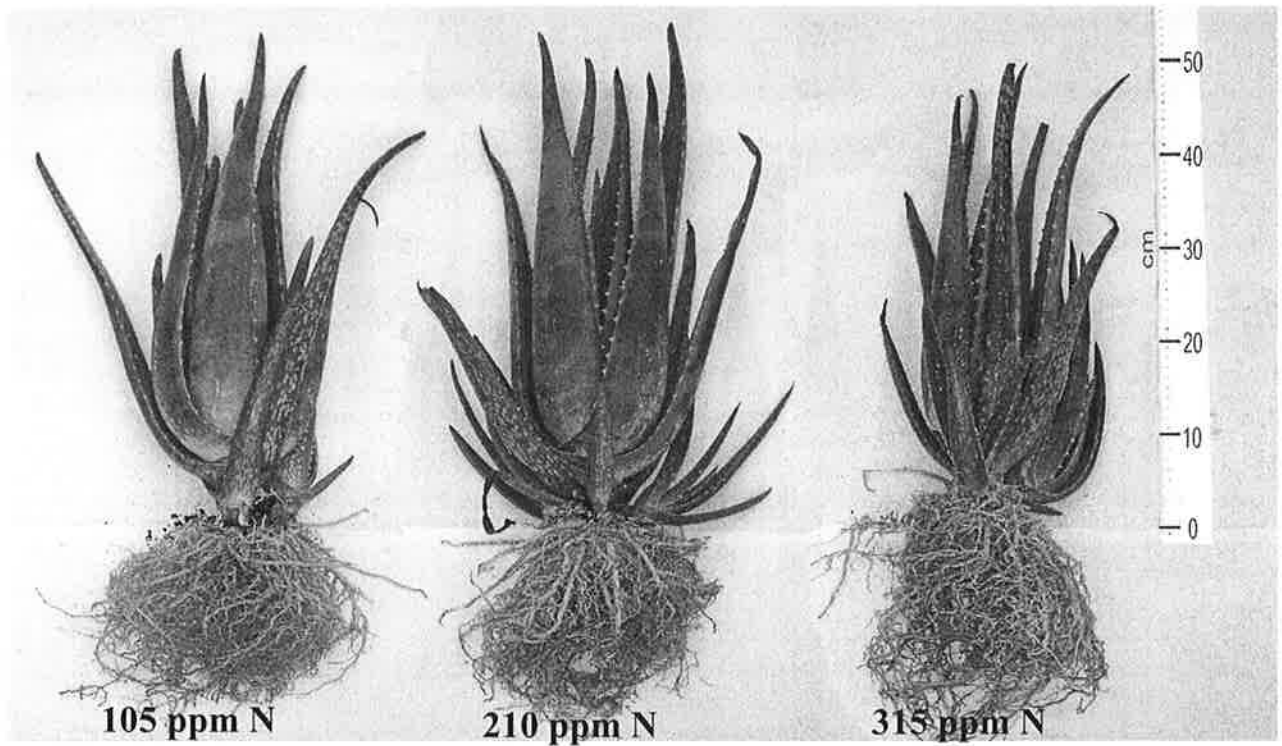


Figura 3. Padrão das plantas de *Aloe vera* aos 180 dias de cultivo em doses de nitrogênio (N)

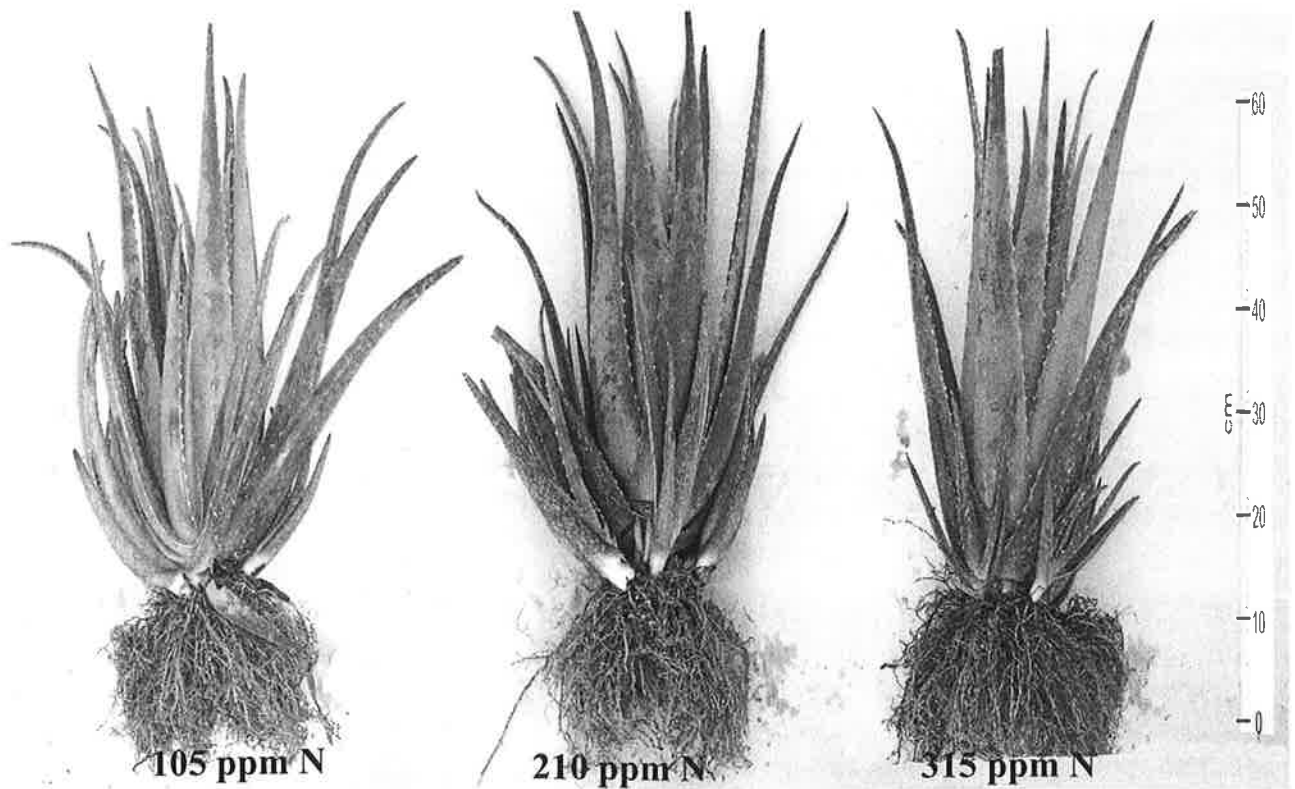


Figura 4. Padrão das plantas de *Aloe vera* aos 270 dias de cultivo em doses de nitrogênio (N)

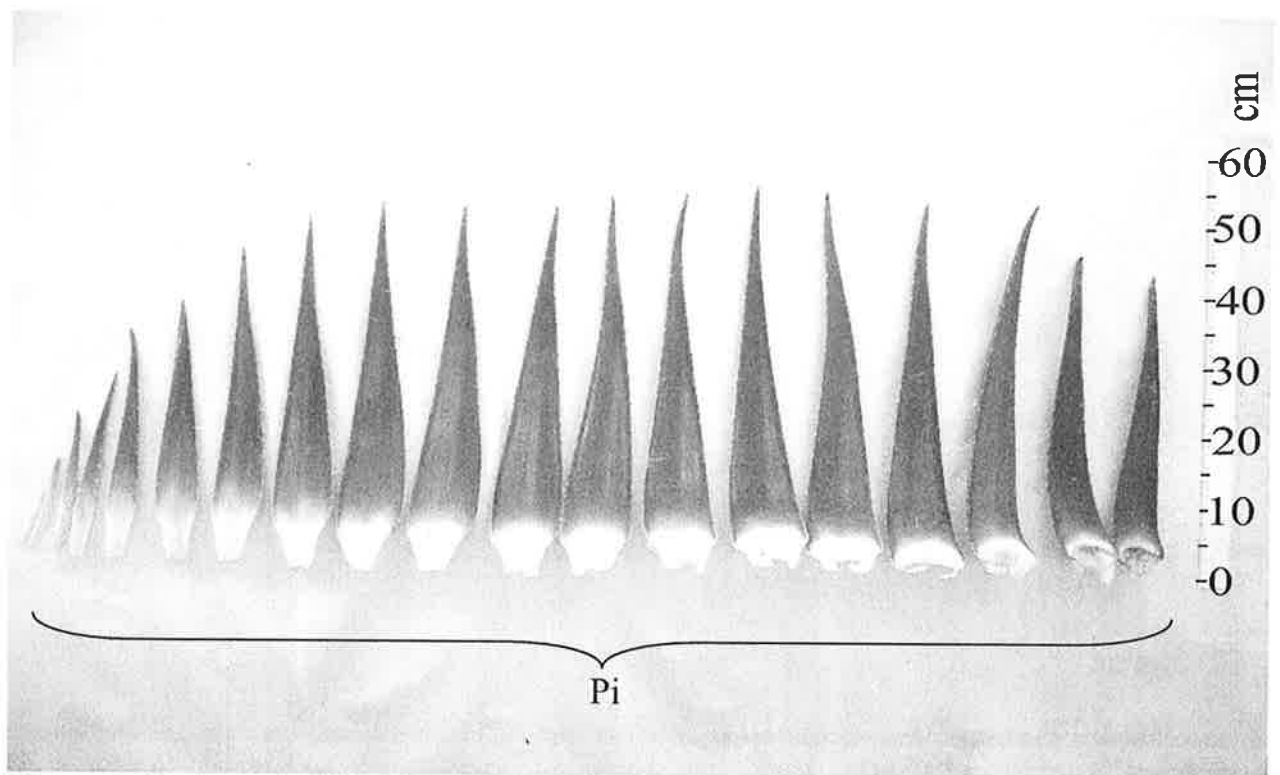
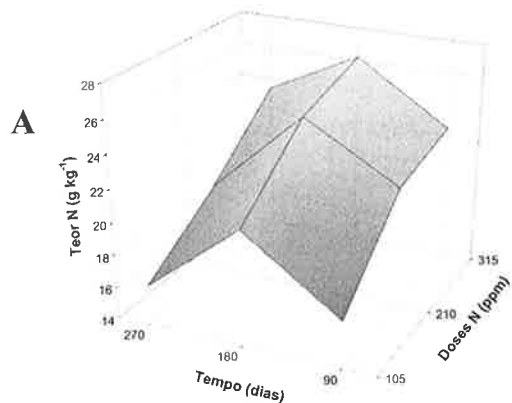
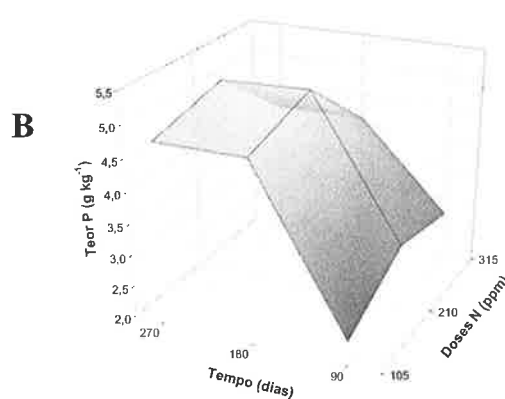


Figura 5. Conjunto de folhas de uma planta inteira (Pi) aos 270 dias de cultivo com dose de nitrogênio de 210 ppm.



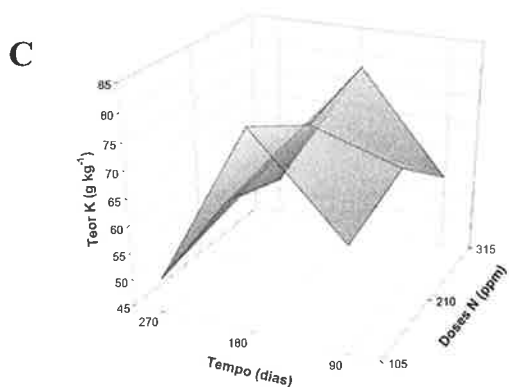
$$\hat{Y} = 0,8429 + 0,0244(N) + 0,2228(T) - 0,00002(N^2) + 0,00003(N*T) - 0,0006(T^2)$$

$$R^2 = 0,4724$$



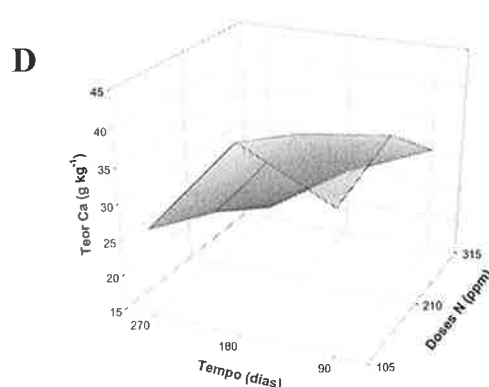
$$\hat{Y} = -0,40571 + 0,0263(N) + 0,0623(T) - 0,00005(N^2) - 0,00003(N*T) - 0,0001(T^2)$$

$$R^2 = 0,7276$$



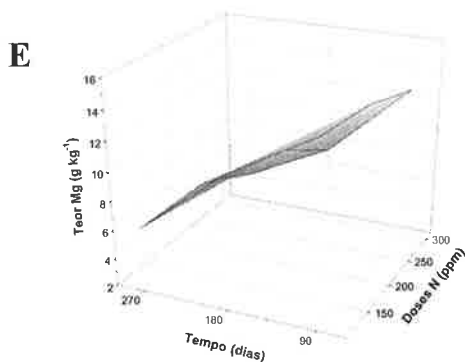
$$\hat{Y} = 15,0333 + 0,0333(N) + 0,7459(T) - 0,0002(N^2) + 0,0002(N*T) - 0,0023(T^2)$$

$$R^2 = 0,8184$$



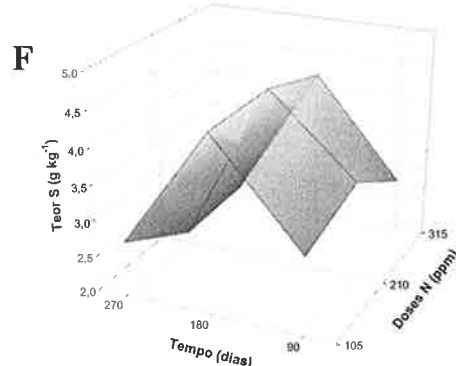
$$\hat{Y} = 17,4002 + 0,1003(N) + 0,2165(T) - 0,0003(N^2) - 0,0001(N*T) - 0,0007(T^2)$$

$$R^2 = 0,7949$$



$$\hat{Y} = 18,3942 + 0,0164(N) - 0,0541(T) - 0,00007(N^2) - 0,000004(N*T) + 0,00003(T^2)$$

$$R^2 = 0,9247$$



$$\hat{Y} = -1,6540 + 0,0028(N) + 0,0707(T) - 0,000009(N^2) - 0,000006(N*T) - 0,0002(T^2)$$

$$R^2 = 0,7889$$

Figura 6. Efeito de doses de nitrogênio (N) em ppm e tempo em dias de cultivo sobre os teores de macronutrientes, em g.Kg⁻¹ de massa de matéria seca, em plantas de *Aloe vera*. A: Teores de nitrogênio (N); B: Teores de fósforo (P); C: Teores de potássio (K); D: Teores de cálcio; (Ca). E: Teores de magnésio e F: Teores de enxofre (S).

Tabela 3. Análise de superfície de resposta para o teor de nitrogênio na planta em função de doses de nitrogênio e tempo de cultivo

Regressão	G.L.	S.Q.	R ²	F
Linear	2	159,3535	0,1719	6,35*
Quadrática	2	276,333	0,2981	11,02*
Interação	1	2,2849	0,0025	0,18 ^{ns}
Total	5	437,9714	0,4724	
Parâmetros	G.L.	Estim.Parâmet	Erro Padrão	F
Interseção	1	0,8429	6,4444	0,13
N	1	0,0244	0,0457	0,53 ^{ns}
Tempo	1	0,2227	0,0533	4,18*
N*N	1	-0,00002	0,0001	-0,21 ^{ns}
Tempo*N	1	0,0003	0,00008	0,43 ^{ns}
Tempo*Tempo	1	-0,0006	0,0001	-4,69*
Fator	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
N	3	159,7640	53,2546	4,25*
Tempo	3	280,4923	93,50	7,45*
Total	39	489,1649	12,5427	

CV = 16,25; * Significativo a 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo.**Tabela 4.** Análise de superfície de resposta para o teor de fósforo na planta em função de doses de nitrogênio e tempo de cultivo

Regressão	G.L.	S.Q.	R ²	F
Linear	2	30,7290	0,4839	34,64*
Quadrática	2	14,0955	0,2220	15,89*
Interação	1	1,3834	0,0218	3,12 ^{ns}
Total	5	46,2079	0,7276	
Parâmetros	G.L.	Estim.Parâmet.	Erro Padrão	F
Interseção	1	-0,40571	1,2119	-3,35*
N	1	0,0263	0,0086	3,07*
Tempo	1	0,0623	0,0100	6,22*
N*N	1	-0,00005	0,00002	-2,87*
Tempo*N	1	-0,00003	0,00001	-1,77 ^{ns}
Tempo*Tempo	1	-0,0001	0,00003	-4,85*
Fator	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
N	3	6,0560	2,0187	4,55*
Tempo	3	41,5352	13,8450	31,21*
Total	39	17,2985	0,4435	

CV = 16,25 ; * Significativo a 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo.

Tabela 5. Análise de superfície de resposta para o teor de potássio na planta em função de doses de nitrogênio e tempo de cultivo

Regressão	G.L.	S.Q.	R ²	F
Linear	2	912,0282	0,1614	17,33*
Quadrática	2	3651,6106	0,6462	69,40*
Interação	1	61,5654	0,0109	2,34 ^{ns}
Total	5	4625,2042	0,8184	
Parâmetros	G.L.	Estim.Parâmet.	Erro Padrão	F
Interseção	1	15,0333	9,3332	1,61 ^{ns}
N	1	0,0333	0,0661	0,50 ^{ns}
Tempo	1	0,7459	0,0772	9,67*
N*N	1	-0,0002	0,00015	-1,29 ^{ns}
Tempo*N	1	0,0002	0,00012	1,53 ^{ns}
Tempo*Tempo	1	-0,0023	0,0002	-11,71*
Fator	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
N	3	162,2294	54,0765	2,06 ^{ns}
Tempo	3	4524,5402	1508,1800	57,33*
Total	39	1026,0221	26,3083	

CV = 7,90; * Significativo a 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo.**ANEXO 6.** Análise de superfície de resposta para o teor de cálcio na planta em função de doses de nitrogênio e tempo de cultivo

Regressão	G.L.	S.Q.	R ²	F
Linear	2	1922,0638	0,6400	60,86*
Quadrática	2	422,4535	0,1407	13,38*
Interação	1	42,9538	0,0143	2,72 ^{ns}
Total	5	2387,4711	0,7949	
Parâmetros	G.L.	Estim.Parâmet.	Erro Padrão	F
Interseção	1	17,4002	7,2309	2,41*
N	1	0,1003	0,0512	1,96 ^{ns}
Tempo	1	0,2165	0,0598	3,62*
N*N	1	-0,0003	0,0001	-2,56*
Tempo*N	1	-0,0001	0,00009	-1,65 ^{ns}
Tempo*Tempo	1	-0,0007	0,0001	-4,50*
Fator	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
N	3	972,9147	324,3049	20,54*
Tempo	3	1457,5102	485,8367	30,77*
Total	39	615,8557	15,7912	

CV = 13,15; * Significativo a 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo.

Tabela 7. Análise de superfície de resposta para o teor de magnésio na planta em função de doses de nitrogênio e tempo de cultivo

Regressão	G.L.	S.Q.	R ²	F
Linear	2	527,2083	0,9131	236,47*
Quadrática	2	6,6498	0,0115	2,98 ^{ns}
Interação	1	0,0289	0,0001	0,03 ^{ns}
Total	5	533,8870	0,9247	
Parâmetros	G.L.	Estim.Parâmet.	Erro Padrão	F
Interseção	1	18,3942	1,9212	9,57*
N	1	0,0164	0,0136	1,21 ^{sn}
Tempo	1	- 0,0541	0,0159	-3,41*
N*N	1	- 0,00007	0,00003	-2,32*
Tempo*N	1	- 0,000004	0,00002	-0,16 ^{sn}
Tempo*Tempo	1	0,00003	0,00004	0,76 ^{sn}
Fator	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
N	3	69,1153	23,0384	20,67*
Tempo	3	464,8006	154,9335	138,99*
Total	39	43,4744	1,1147	

CV = 11,09; * Significativo a 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo.**Tabela 8.** Análise de superfície de resposta para o teor de enxofre na planta em função de doses de nitrogênio e tempo de cultivo

Regressão	G.L.	S.Q.	R ²	F
Linear	2	5,1327	0,1240	11,46*
Quadrática	2	27,4592	0,6635	61,30*
Interação	1	0,0562	0,0014	0,25 ^{ns}
Total	5	32,6480	0,7889	
Parâmetros	G.L.	Estim.Parâmet.	Erro Padrão	F
Interseção	1	- 1,6540	0,8611	-1,92 ^{ns}
N	1	0,0028	0,0061	0,47 ^{ns}
Tempo	1	0,0707	0,0071	9,93*
N*N	1	- 0,000009	0,00001	-0,67 ^{ns}
Tempo*N	1	- 0,000006	0,00001	-0,50 ^{ns}
Tempo*Tempo	1	- 0,0002	0,00002	-11,05*
Fator	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
N	3	1,4603	0,4867	2,17 ^{ns}
Tempo	3	31,2439	10,4146	46,50*
Total	39	8,7347	0,2239	

CV = 14,44; * Significativo a 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo.

Os teores médios, em torno de 20 gN.Kg⁻¹ de MMS observados ao longo de 270 dias de cultivo, equivaleram aos teores de nitrogênio em *Aloe vera* observados por Fuentes-Carvajal et al. (2006), aos 180 dias de cultivo na mesma composição da solução nutritiva utilizada neste trabalho. Entretanto, Garcia-Hernandez et al. (2006) apontaram um teor foliar de 8,1 gN.Kg⁻¹ para uma boa produtividade de *Aloe vera* se cultivada em solo calcário de regiões áridas do México.

Semelhantemente ao comportamento dos teores de nitrogênio ao longo do tempo, os teores de fósforo na planta aumentaram dos 90 aos 180 dias e permaneceram estáveis dos 180 aos 270 dias de cultivo. A dose de 210 ppm favoreceu teores de fósforo mais altos em relação às doses de 105 e 315 ppm de nitrogênio aos 90; 180 e 270 dias de cultivo.

O aumento nos teores de fósforo, observado dos 90 aos 180 dias de cultivo está relacionado diretamente à expansão foliar mais intensa justamente nesse período (Fuentes-Carvajal et al. 2006) que registra maiores intensidades fotossintéticas. Deve-se lembrar que plantas de *Aloe vera* exportam a glicose produzida pela fotossíntese sob forma de glicose-fosfato que, nos tecidos aquíferos, é convertida em polissacarídeos de manose. Essas células quando totalmente expandidas ocupam cerca de 60% do volume foliar (Jing-Yuan et al. 2003).

Os teores de potássio aumentaram dos 90 aos 180 dias e decresceram dos 180 aos 270 dias de cultivo. O aumento das doses de nitrogênio pouco interferiu no incremento de teores de potássio na planta. Os teores máximos de potássio em torno de 77 gK.Kg⁻¹ de MMS foram observados aos 180 dias de cultivo em presença de quaisquer das doses de nitrogênio. O aumento de potássio dos 90 aos 180 dias de cultivo, e seu decréscimo dos 180 aos 270 dias de cultivo, reitera que *Aloe vera* apresenta sua maior taxa metabólica em torno dos 180 dias de cultivo. Garcia-Hernandez et al. (2006) indicam um teor

foliar de potássio de 22,39 gK.Kg⁻¹ de MMS para uma boa produtividade de *Aloe vera* cultivada em solos calcários de regiões áridas. Portanto, os teores máximos de potássio em torno de 70 gK.Kg⁻¹ de MMS, evidenciados nas condições de cultivo deste trabalho, foram relativamente altos.

Os teores de cálcio aumentaram somente dos 90 aos 180 dias de cultivo na dose de 105 ppm de nitrogênio. Dos 180 aos 270 dias de cultivo os teores de cálcio decresceram simultaneamente aos aumentos das doses de 105; 210 e 315 ppm de nitrogênio. Os teores mais altos desse nutriente na planta, entre 38,01 e 40,91 gCa.Kg⁻¹ de MMS na fase de maior crescimento, em torno dos 180 dias de cultivo, equivalem aos resultados obtidos e sugeridos por Garcia-Hernandez et al. (2006) como teores ótimos para uma boa produtividade de plantas de *Aloe vera*. Dos 90 aos 180 dias de cultivo pode ter ocorrido maior aumento no número de células parenquimáticas do tecido aquífero (Femenia et al., 1999), demandando assim formações mais intensas de lamela média e, conseqüentemente, síntese de pectatos de cálcio. Os decréscimos dos teores de cálcio dos 180 aos 270 dias de cultivo pode ter sido devido ao aumento do gel de polissacarídeos que é relativamente pobre em cálcio.

Os teores de magnésio decresceram ao longo dos 270 dias de cultivo independentemente do aumento nas doses de nitrogênio. O decréscimo nos teores de magnésio dos 90 aos 270 dias de cultivo pode ser devido à própria natureza de acúmulo e funções desse elemento nas plantas. Esse acúmulo ocorre normalmente na fase inicial de crescimento das plantas e suas funções estão diretamente ligadas à estruturação e funcionamento do aparato fotossintético. Os teores médios, variando de aproximadamente 14; 13 e 12 gMg.Kg⁻¹ de MMS nas respectivas doses de 105; 210 e 315 ppm de nitrogênio, aproximam-se dos teores 11,33 gMg.Kg⁻¹ de MMS, observados

e sugeridos por Garcia-Hernandez et al. (2006) para uma boa produtividade de massa de matéria fresca em *Aloe vera*.

Os teores de enxofre aumentaram e decresceram dos 90 aos 180 dias e dos 180 aos 270 dias de cultivo, respectivamente. A dose de 210 ppm favoreceu incrementos maiores nos teores de enxofre em relação às doses de 105 e 315 ppm de nitrogênio. Esse comportamento obedeceu a um paralelismo ao comportamento dos teores de nitrogênio e de proteínas totais solúveis. Tal comportamento não poderia ser diferente já que as funções do enxofre e de nitrogênio se resumem praticamente à integração a proteínas (Malavolta, 2006). Este mesmo autor observa uma relação de 24 átomos de nitrogênio para cada átomo de enxofre para a maioria das plantas. No caso deste experimento, essa relação foi um pouco mais

estreita, observando-se uma média de 7:1. O paralelismo mais evidente foi em torno dos 180 dias de cultivo, 6N:1S, em quaisquer das doses testadas de nitrogênio. Efeito de doses de nitrogênio e tempo de cultivo sobre os teores de proteínas totais solúveis, açúcares redutores e açúcares totais solúveis

Os fatores doses de nitrogênio (105; 210 e 315 ppm) e tempo de cultivo (90; 180 e 270 dias de cultivo) foram significativos ($P < 0,05$) em relação aos teores das variáveis proteínas totais solúveis (PTS), açúcares redutores (AR) e açúcares totais solúveis (ATS). Os teores de cada variável, expressos em mg.g^{-1} de massa de matéria seca (MMS), em cada tempo de cultivo e em cada dose de nitrogênio, foram registrados (Tabela 9 e Figuras 7A, B e C) bem como os resultados das análises de superfície de resposta (Tabelas 10; 11 e 12).

Tabela 9. Teores de proteínas totais solúveis (PTS), açúcares redutores (AR) e açúcares totais solúveis (ATS), expressos em mg.g^{-1} de massa de matéria seca em plantas de *Aloe vera*, cultivadas em doses de nitrogênio expressas em ppm e tempos expressos em dias de cultivo (DDC)

Doses N (ppm)	Tempo (DDC)	PTS	AR	AT
105	90	2,01	11,71	152,52
	180	8,70	9,53	204,05
	270	4,91	18,12	496,58
210	90	2,27	8,48	175,77
	180	9,24	10,90	165,56
	270	7,27	18,42	504,21
315	90	3,64	7,45	48,07
	180	11,72	11,58	315,64
	270	9,07	21,19	486,00

Os teores de proteínas totais solúveis (PTS) apresentaram comportamento bastante semelhante ao comportamento dos teores de nitrogênio e de enxofre na planta. Essa observação não poderia ser diferente visto que o enxofre e principalmente o nitrogênio, são componentes estruturais de proteínas recipientes do grupo amino dos aminoácidos. Outro fato interessante refere-se ao acentuado aumento dos teores de PTS

dos 90 aos 180 dias, seguido de discretos decréscimos dos 180 aos 270 dias de cultivo, em quaisquer das doses testadas de nitrogênio. Esse comportamento pode ser justificado pelo acentuado aumento de açúcares, tanto redutores e principalmente açúcares totais, observados dos 180 aos 270 dias de cultivo, também em quaisquer das doses testadas de nitrogênio.

Tabela 10. Análise de superfície de resposta para o teor de proteína total solúvel (PTS) na planta em função de doses de nitrogênio e tempo de cultivo

Regressão	G.L.	S.Q.	R ²	F
Linear	2	213,0201	0,3982	6939*
Quadrática	2	254,0192	0,4749	82,75*
Interação	1	8,0264	0,0150	5,23*
Total	5	475,0658	0,8881	
Parâmetros	G.L.	Estim.Parâmet.	Erro Padrão	F
Interseção	1	- 13,6787	2,2544	-6,07*
N	1	- 0,0138	0,0159	-0,87 ^{ns}
Tempo	1	0,2339	0,0186	12,55*
N*N	1	0,00004	0,00003	1,06 ^{ns}
Tempo*N	1	0,00007	0,00003	2,29*
Tempo*Tempo	1	- 0,0006	0,00005	-12,82*
Fator	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
N	3	74,5086	24,8362	16,18*
Tempo	3	408,5836	136,1945	88,73*
Total	39	59,8603	1,5348	

CV = 18,96; * Significativo a 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo**Tabela 11.** Análise de superfície de resposta para o teor de açúcares redutores (AR) na planta em função de doses de nitrogênio e tempo de cultivo

Regressão	G.L.	S.Q.	R ²	F
Linear	2	756,0319	0666	81,80*
Quadrática	2	130,7744	0,1153	14,15*
Interação	1	67,1978	0,0592	14,54*
Total	5	954,0039	0,8411	
Parâmetros	G.L.	Estim.Parâmet.	Erro Padrão	F
Interseção	1	24,1135	3,9116	6,16*
N	1	- 0,0589	0,0277	-2,12*
Tempo	1	- 0,1429	0,0323	-4,42*
N*N	1	0,00006	0,00006	0,98 ^{ns}
Tempo*N	1	0,0002	0,00005	3,81*
Tempo*Tempo	1	0,0004	0,00008	5,23*
Fator	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
N	3	72,2377	24,0792	5,21*
Tempo	3	948,9640	316,3213	68,45*
Total	39	180,2175	4,6209	

CV = 16,48; * Significativo a 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo.

Tabela 12. Análise de superfície de resposta para o teor de açúcares totais (ATS) na planta em função de doses de nitrogênio e tempo de cultivo

Regressão	G.L.	S.Q.	R ²	F
Linear	2	1027548	0,7645	84,14*
Quadrática	2	67458	0,0502	5,52*
Interação	1	11014	0,0082	1,80 ^{ns}
Total	5	1106021	0,8228	

Parâmetros	G.L.	Estim.Parâmet.	Erro Padrão	F
Interseção	1	288,2655	142,1895	2,03*
N	1	-0,5272	1,0076	-0,520 ^{ns}
Tempo	1	-2,1145	1,1756	-1,80 ^{ns}
N*N	1	0,0002	0,0022	0,08 ^{ns}
Tempo*N	1	0,0025	0,0018	1,34 ^{ns}
Tempo*Tempo	1	0,0101	0,0030	3,32*

Fator	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
N	3	11063	3687,5872	0,60 ^{ns}
Tempo	3	1105973	368658	60,38*
Total	39	238136	6106,0602	

CV = 27,60; * Significativo a 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo.

Na fase de crescimento das plantas de *Aloe vera*, observada dos 90 aos 180 dias de cultivo, ocorre formação e estruturação do aparato metabólico para síntese de seus compostos de reserva à base de polissacarídeos. Os teores de PTS aumentaram dos 90 aos 180 dias e decresceram dos 180 aos 270 dias de cultivo. As doses crescentes de nitrogênio (105; 210 e 315 ppm) favoreceram aumentos discretos nos teores de PTS à medida que as doses foram aumentadas. O teor médio de PTS, aos 180 dias de cultivo na dose de 210 ppm de nitrogênio, foi de 9,24 mgPTS.g⁻¹ de MMS

Os discretos decréscimos nos teores de PTS observados dos 180 aos 270 dias de cultivo em quaisquer das doses testadas de nitrogênio, já discutidos anteriormente, possivelmente não sejam consequência de decréscimos na síntese de proteínas e, sim, ao acentuado aumento nos teores de polissacarídeos, característicos dessa espécie, os quais devem ter sido os

responsáveis pelo efeito de diluição dos teores protéicos (Leung et al., 2004).

Os teores de açúcares redutores (AR) e açúcares totais solúveis (ATS) apresentaram aumentos mais discretos dos 90 aos 180 dias e incrementos bastante acentuados dos 180 aos 270 dias de cultivo. O aumento das doses de nitrogênio provocou aumentos nos teores de AR e praticamente não interferiu nos teores de ATS.

Relacionando-se teores de proteínas e estádios fisiológicos de crescimento ao longo dos 270 dias de cultivo, pode-se inferir o comportamento dos teores de AR e ATS, os quais aumentaram mais acentuadamente dos 180 aos 270 dias de cultivo. Desse modo, considerando que o gênero *Aloe* é grande armazenador de polissacarídeos específicos em células parenquimáticas especializadas, que formam um tecido aquífero não fotossintetizante com funções de armazenamento de reservas; que a formação de polissacarídeos depende da síntese e exportação cloroplastidial de

açúcares monoméricos para serem polimerizados no tecido aquífero; e que a maior síntese e acúmulo de polissacarídeos ocorre mais acentuadamente em torno dos 270 dias de cultivo, pode-se supor que tanto os teores de AR como ATS aumentem também nesse período. Essas características de armazenamento de polissacarídeos específicos do gênero *Aloe* são conhecidas e muito bem caracterizadas (Femenia et al., 1999; Jing-Yuan et al., 2003; Ni et al., 2004 e Talmadge et al., 2004).

Os teores máximos de AR e ATS aos 270 dias de cultivo, na dose de 210 ppm de nitrogênio, foram de 18 mgAR.g⁻¹ de MMS para AR e de 504 mgATS.g⁻¹ de MMS para ATS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRADFORD, M. M., 1956. A rapid sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, **72**: 248-254.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F., 1956. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, New York, **28**: 350-356.
- EPSTEIN, E.; BLOMM, A. J., 2004. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2^a ed. Londrina: Planta, p. 85
- FEMENIA, A.; SÁNCHEZ, E. S.; SIMAL, S.; ROSSELLÓ, C., 1999. Compositional features of polysaccharides from *Aloe Vera* (*Aloe barbadensis* Miller) plant tissues. **Carbohydrate Polymers**, Barking, **39** n. 2, p. 109-117.
- FUENTES-CARVAJAL, A.; VÉLIZ, J. A.; BUIZA, J. I., 2006 Efecto de la deficiencia de macronutrientes em el desarrollo vegetativo de *aloe vera*. **Interciência**. Caracas, **31** :116-122.
- GARCIA-HERNÁNDEZ, J. L.; VALDEZ-CEPADA, R. D.; MURILLO-AMADOR, B.; BELTRÁN-MORALES, F. A.; RUIZ-ESPINOZA, F. H.; ORONA-CASTILHO, I.; FLORES-HERNÁNDEZ, A.; TROYO-DIÉGUEZ, E., 2006. Preliminary compositional nutrient diagnosis norms in *Aloe vera* L. grow on calcareous soil in an arid environment. **Environmental and Experimental botany**. Elmsford, **58**: 244 – 252.
- GOWDA, D. C.; NEELISIDDAIAH, B.; ANJANEYALU, Y. V., 1979 Structural studies of polysaccharides from *Aloe vera*. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, **72**: 201-205
- HARDING, T. B., 1979 Aloes of the world: A checklist, index and code. **Excelsa**, Causeway, **9**:57-94.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, H. I., 1950 **The water-culture method for growing plants without soil**. California Experimental Agriculture Station. Berkeley: 32p., (Circular. 347).
- JING-YUAN, L.; WANG, T. X.; SHIEN, Z. G.; HU, Z. H., 2003 Relationship between leaf structure and aloin content in six species of *Aloe vera* L. **Acta Botanica Sinica**, Peiping, **45**: 594-600.
- LEUNG, M. Y. K.; LIU, C.; ZHU, L. F.; HUI, Y. Z.; YU, B.; FUNG, K. P., 2004. Chemical and biological characterization of a polysaccharide response modifier from *Aloe vera* L. Var. *Chinensis* (Haw) Berg. **Glycobiology**, Oxford, **14** 501-510.
- MALAVOLTA, E., 2006 **Manual de nutrição de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 631p.
- MANDAL, G.; DAS, A., 1980. Structure of the D-Galactan isolated from *Aloe*

- barbadensis* Miller. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, **86**: 247-257.
- MANDAL, G.; DAS, A., 1980. Structure of the glucomannan isolated from the leaves of *Aloe barbadensis* Miller. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, **87**: 249-256.
- MANDAL, G.; GHOSH, R.; DAS, A., 1983. Characterization of polysaccharides of *Aloe barbadensis* Miller: Part III-Structure of an acidic oligosaccharide. **Indian Journal of Chemistry**, New Delhi, **22B**: 890-893.
- MAPP, R. K.; MCCARTHY, T. J., 1970. The Assessment of Purgative Principles in Aloes. **Planta Medica**, New York, **18**: 361-365.
- MORTON, J. F., 1961. Folk Uses and Commercial Exploitation of Aloe Leaf Pulp. **Economic Botany**, Bronx, **15**: 311-319.
- NELSON, N., 1944. A photometric adaptation of the Somogy method for determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, **153**: 375 - 380.
- NI, Y.; TURNER, D.; YATES, K. M.; TIZARD, I., 2004. Isolation and characterization of structural components of *Aloe vera* L. Leaf pulp. **International Immunopharmacology**, Amsterdam, **4**: 1745-1755.
- OKAMURA, N.; HINE, N.; HARADA, S.; FUJIOKA, T.; MIHASHI, K.; YAGI, A., 1996. Three chromone components from *Aloe vera* leaves. **Phytochemistry**, New York, **43**: 495-498.
- OLIVEIRA, E.T.; CROCOMO, O J.; VIVIAN, R.; GALLO, L.A., 2007. Large scale micropropagation of *Aloe vera*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, no prelo.
- PARK, M. K.; PARK, J. H.; KIM, N. Y.; SHIN, Y. G.; CHOI, Y. S.; LEE, J. G.; KIM, K. H.; LEE, S. K., 1998. Analysis of 13 Phenolic Compounds in *Aloe* species by High Performance Liquid Chromatography. **Phytochemical Analysis**, Sussex, **9**: 186-191.
- REYNOLDS, T.; DWECK, A. C., 1999. Aloe vera leaf gel: a review update. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, **68**: 3-37.
- SARRUGE, J.R.; HAAG, H. P., 1974. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ, 56 p.
- SOUZA, V.; LORENZI, H., 2005. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, p. 640.
- TALMADGE, J.; CHAVEZ, J.; JACOBS, L.; MUNGER, C.; CHINNAH, T.; CHOW, J. T.; WILLIAMSON, D.; YATES, K., 2004. Fractionation of *Aloe vera* L. Inner gel, purification and molecular profiling of activity. **International Immunopharmacology**, Amsterdam, v. **4**: 1757-1773.
- VITTI, G. C., 1988. **Avaliação e interpretação do enxofre no solo e na planta**. Jaboticabal: Funep, 37p.