

Alteração bioquímica e enzimática em porta-enxertos de videira sob diferentes fontes de nitrogênio

Biochemical changes in vine rootstocks under different nitrogen sources

Alessandro Carlos Mesquita^{1*}, Jadson Patrick Santana de Moraes¹, Vanuza de Souza¹, Kaline Mendes Ferreira¹, Luan David Alcantara Campos¹, Daniel Amorim Vieira¹

¹Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais (DTCS), Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Av. Edgard Chastinet Guimarães, s/n, Bairro São Geraldo, CEP 48904-711, Juazeiro, BA, Brasil

*autor correspondente

✉ alessandro.mesq@yahoo.com.br

RESUMO: A cultura da videira tem grande importância socioeconômica para o submédio São Francisco, necessitando de um manejo adequado de adubação e irrigação, associado a mudas de excelente qualidade. O porta-enxerto exerce uma função primordial nesse processo, absorvendo água e nutrientes, que serão transcolados para cultivar copa, a fim de obter uma produtividade elevada e com frutos de melhor qualidade. Dessa forma, este trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento fisiológico/bioquímico de porta-enxertos submetidos a diferentes fontes de nitrogênio. O trabalho foi conduzido na área experimental da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), sendo utilizado o delineamento experimental em blocos ao acaso, em esquema fatorial 3×2 (porta-enxerto versus fontes de nitrogênio), com 6 repetições. Os resultados permitiram concluir que a aplicação de nitrato de cálcio proporcionou ao porta-enxerto Harmony maiores valores de proteína total, e o porta-enxerto SO4 apresentou resultados similares com a aplicação de ureia. O porta-enxerto SO4 adubado com ureia apresenta valores quantitativamente superiores para a concentração de sacarose, quando comparado com os demais. A atividade da enzima redutase do nitrato ocorre preferencialmente no tecido vegetal foliar, independentemente da fonte de nitrogênio.

PALAVRAS-CHAVE: Análise bioquímica, redutase do nitrato, *Thompson Seedless*.

ABSTRACT: *Vine culture is of great socio-economic importance to the sub-medium São Francisco region, requiring proper management of fertilization and irrigation, combined with excellent quality seedlings. Rootstock plays an important role in this process, absorbing water and nutrients that are translocated to grow plant canopy in order to obtain high productivity and better quality fruits. Thus, this study aimed to evaluate the physiological/biochemical behavior of rootstocks submitted to different nitrogen sources. The study was conducted in the experimental area of the State University of Bahia (UNEB) using a randomized block experimental design, with 3×2 factorial (rootstock x nitrogen source), with six repetitions. The results showed that the application of calcium nitrate provided the Harmony rootstock with higher values of total protein, and the SO4 rootstock showed similar results with the application of urea. The SO4 rootstock fertilized with urea presented higher concentrations of sucrose compared with those of the other rootstocks. Nitrate reductase enzyme activity occurs preferentially in plant leaf tissue, regardless of nitrogen source.*

KEYWORDS: *Biochemical analysis, nitrate reductase, Thompson Seedless.*

Introdução

O polo Petrolina-PE/Juazeiro-BA, localizado na região do Submédio do Vale do São Francisco, é considerado pioneiro na produção de uva de mesa, vinho e suco em condições tropicais. No entanto, as cultivares mais utilizadas apresentam problemas de adaptação, implicando maiores/menores produtividades (SOUZA et al., 2013).

Algumas características agronômicas e fisiológicas das cultivares, como vigor, produção, repartição de fotoassimilados, teor de açúcares e acidez dos frutos, entre outras, podem ser influenciadas, principalmente, pelos porta-enxertos (LEÃO; BRANDÃO; GONÇALVES, 2011). Contudo, essas respostas são diferenciadas conforme as condições edafoclimáticas e a cultivar copa sobre ela enxertada (MOTA et al., 2009).

As explorações vitícolas veem se mostrando cada vez mais intensivas, visando ao aumento de produtividade e à qualidade da uva, merecendo assim um amplo destaque a aplicação balanceada de nutrientes, mediante adubações equilibradas, baseada em análises químicas de solo e de folha, diminuindo assim o risco a danos ambientais induzidos pelo uso inadequado de fertilizantes (TEIXEIRA et al., 2011). Recomenda-se durante o crescimento das videiras jovens, tomando como base o teor de matéria orgânica no solo, a aplicação de fontes de nitrogênio (N), como, por exemplo, nitrato de amônio, ureia e nitrato de potássio.

A videira absorve o N por fluxo de massa da solução do solo, especialmente nas formas de nitrato e amônio. Depois de absorvido, parte do N é incorporada às estruturas carbonadas. A outra parte é acumulada, na forma de compostos nitrogenados de baixo peso molecular, nos órgãos perenes da planta. A acumulação de N nas partes perenes ocorre durante todo o ciclo vegetativo e produtivo da videira, de acordo com Casali (2011).

A enzima redutase do nitrato (RN) tem grande importância para regulação do metabolismo do N, já que o nitrato absorvido pelas raízes deve ser reduzido a NH_4^+ antes de ser incorporado em compostos orgânicos no sistema radicular e/ou na parte aérea. Porém, são escassas as informações relacionadas com a influência do porta-enxerto na distribuição dos compostos bioquímicos na planta da videira, de acordo com alguns autores (MOTA et al., 2009; FELDBERG et al., 2007).

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de porta-enxertos e de diferentes fontes de nitrogênio nos teores bioquímicos e na atividade da enzima chave no processo de assimilação do nitrogênio em plantas de videira cultivadas no Vale do São Francisco.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais, da Universidade do Estado da Bahia, durante o período de agosto de 2013 a julho de 2014, em Juazeiro-BA (latitude: 9°25'43" S, longitude: 40°32'14" W, altitude: 384 m). Foram utilizadas 72 plantas de Thompson Seedless, enxertadas sobre o porta-enxerto Harmony, SO4 e IAC-766, com quatro anos de idade.

As plantas foram conduzidas em sistema tipo espaldeira, com espaçamento entre filas de 1,5 m e entre plantas de 1,0 m. As videiras foram manejadas em hastes únicas mediante a eliminação das brotações laterais, realizada quando necessário, mantendo-se o tronco ereto amarrado ao tutor.

Em dezembro de 2013 foi realizada a coleta de amostras de solo compostas na camada de 0-20 cm, em vasos aleatório, de três plantas de cada bloco, distantes, aproximadamente, 15 cm do caule de cada planta, para a análise de macro e micronutrientes.

As videiras foram submetidas a uma aplicação de adubação com duas fontes distintas de nitrogênio; (a) ureia (45% de N – 4g N) e (b) nitrato de cálcio (15% de N – 4g N), sendo aplicados 9g e 26g por planta, respectivamente.

Para as análises bioquímicas, realizadas no período de junho a julho de 2014, selecionaram-se folhas expandidas, expostas a luz, sadias, sem sinais de senescência, coletadas entre 8h e 9h da manhã, para posterior submissão às análises espectrofotométricas de proteínas totais (PTN) (BRADFORD, 1976); açúcares solúveis totais (AST) (YEMM; WILLIS, 1954); açúcares redutores (AR) (MILLER, 1959); e o ensaio *in vivo* da enzima redutase do nitrato (RN), que também foi realizado no tecido radicular das plantas.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, em esquema fatorial 3×2 (porta-enxerto com diferentes fontes de nitrogênio), com 6 repetições. Todas as médias foram comparadas entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade, por intermédio do programa Assistat (SILVA; AZEVEDO, 2016).

Resultados e Discussão

De acordo com Taiz e Zeiger (2013), as proteínas correspondem a, aproximadamente, 30% da massa seca total de uma planta típica, caso específico de nosso estudo. Com isso, podemos observar na Figura 1A que os teores de proteínas solúveis totais dos tecidos foliares apresentaram interação entre os porta-enxertos e as fontes de adubo, pois é possível que cada genótipo da cultivar copa apresente uma resposta distinta quando submetido à adubação nitrogenada com os porta-enxertos.

Como demonstrado na Figura 1A, podemos observar os resultados referentes à aplicação de nitrato de cálcio. Neste caso verifica-se que o porta-enxerto Harmony apresentou maiores teores de PTN ($2976,02 \mu\text{g PTN.g.MS}^{-1}$), mesmo comportamento apresentado pelo porta-enxerto SO4 e IAC 766, quando aplicada ureia.

De acordo com Xia e Cheng (2004), em torno de 60% do carbono que é movido das reservas é convertido em proteínas e aminoácidos e o restante é consumido pelo metabolismo respiratório. Com isso, pode inferir-se que a absorção/ metabolização do N aplicado via solo pode ter contribuído para a alteração da síntese de novos aminoácidos e proteínas nos tecidos foliares da videira, como demonstrado na Figura 1A.

Em trabalhos realizados com aplicação de nitrogênio via foliar não foram caracterizadas alterações dos níveis de aminoácidos e proteínas. A justificativa para esta ação é que o nitrogênio presente no solo pode ter fornecido uma quantidade satisfatória desse elemento para as videiras, sendo de pouca importância à aplicação foliar de N para o aumento dos valores de aminoácidos e proteínas nos ramos da videira.

Nas Figuras 1B e 2A, respectivamente, são apresentadas as concentrações de açúcares redutores (AR) e açúcares solúveis totais (AST) no tecido foliar da cultivar Thompson Seedless enxertada sobre os porta-enxerto: Harmony, SO4 e IAC-766.

Os teores de glicose, frutose e sacarose, bem como a atividade de enzimas do metabolismo de carboidratos em folhas de videiras, são influenciados por variações sazonais e fenológicas das videiras. Como mostrado nas Figuras 1 B e 2 A, as fontes

de nitrogênio não diferenciaram significativamente entre si com relação às variáveis AR e AST.

De acordo com Dantas, Ribeiro e Pereira (2007), que avaliaram os teores de açúcares solúveis e insolúveis em folhas de videiras, cv. Syrah, em diferentes posições do ramo e épocas do ano, os valores encontrados foram bem inferiores aos encontrados no presente trabalho. Os açúcares totais foram 20 mg g⁻¹ MF e amido 12,16 mg g⁻¹ MF ou 2% e 1,2%, respectivamente, sendo valores considerados baixos pelos autores, o que pode

ser devido às características varietais intrínsecas dos materiais trabalhados.

No entanto, em alguns trabalhos (DANTAS; RIBEIRO; PEREIRA, 2007; LIMA FILHO et al., 2009) pode-se observar que houve um aumento gradual nos açúcares em relação ao crescimento e desenvolvimento dos frutos da videira em função do acúmulo de fotoassimilados provenientes das folhas. No caso específico deste trabalho, em que as folhas foram coletadas para verificar a influência do tipo de adubação no acúmulo de

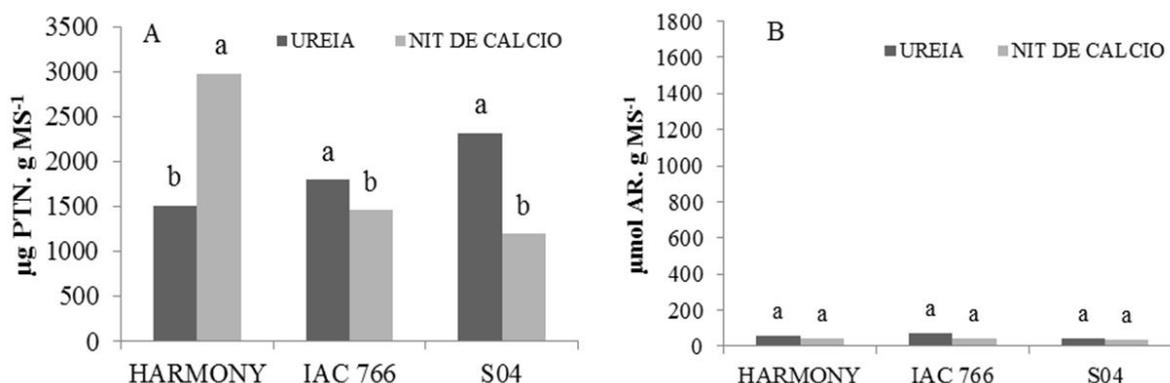


Figura 1. Teores de proteínas solúveis totais (A) e açúcares redutores (B) no tecido foliar de diferentes porta-enxertos da videira, submetidos aos tratamentos ureia e nitrato de cálcio, Juazeiro, BA. As médias seguidas de mesma letra minúscula nos porta-enxertos não se diferenciam pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

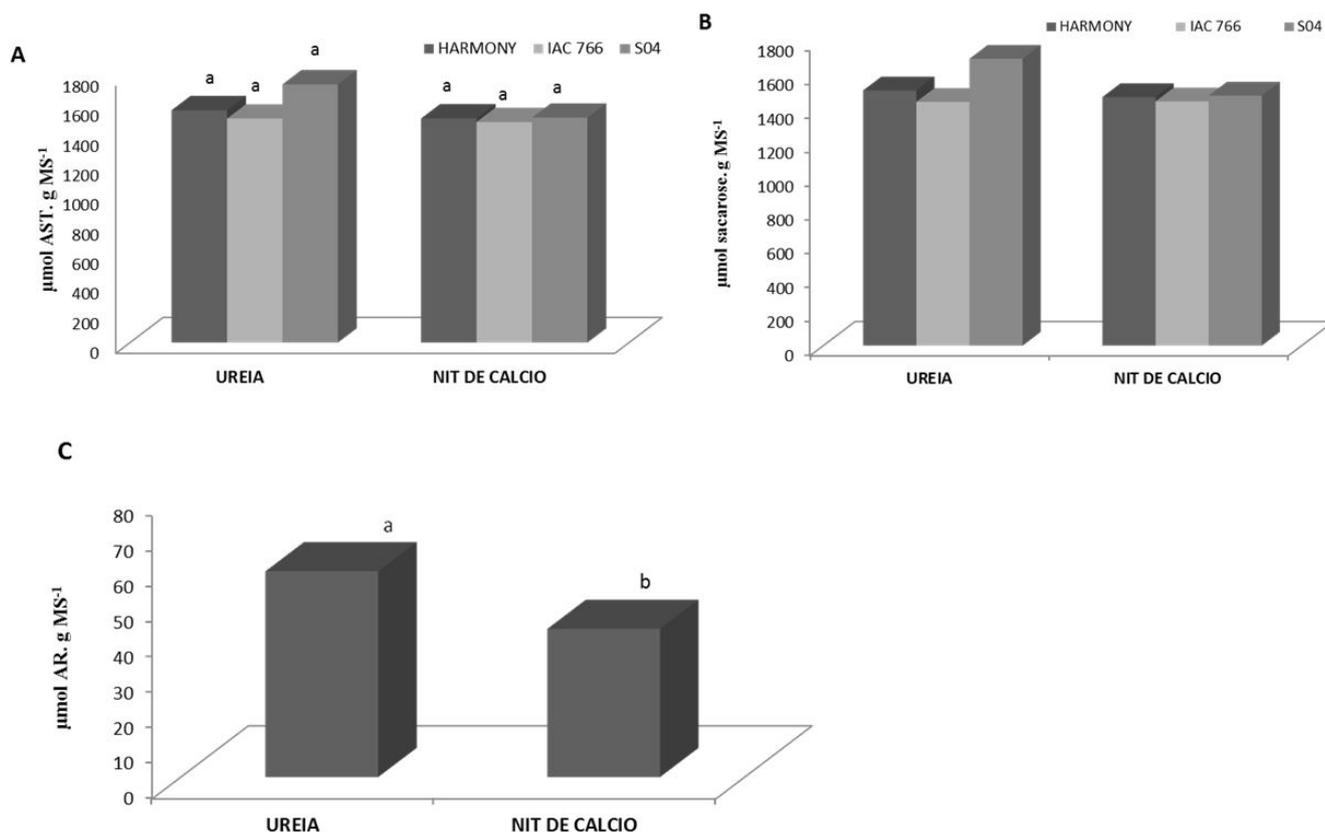


Figura 2. Teores de açúcares solúveis totais no tecido foliar de videira submetidos aos tratamentos de ureia e nitrato de cálcio (A); teores estimados de sacarose no tecido foliar de diferentes porta-enxertos da videira, submetidos aos tratamentos ureia e nitrato de cálcio (B) e teores de açúcares redutores no tecido foliar de porta-enxerto, submetidos aos tratamentos ureia e nitrato de cálcio (C). Juazeiro-BA. As médias seguidas de mesma letra minúscula nos adubos não se diferenciam pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

açúcares, não foram observadas alterações significativas nos teores de açúcares.

Os ASTs possuem em sua constituição basicamente hexoses e outros açúcares de cadeia maiores, englobando todos os açúcares solúveis presentes nas folhas, entre os quais a sacarose ocorre em maior quantidade.

A diferença entre os conteúdos de ASTs e ARs representa a disponibilidade total de açúcares com função de transporte, especialmente a sacarose. Quanto maior a diferença entre ASTs e de ARs, maiores os teores de sacarose.

Verifica-se na Figura 2B, que o porta-enxerto SO4 adubado com ureia apresenta valores quantitativamente maiores para a concentração de sacarose ($1694,18 \mu\text{mol sacarose. g. MS}^{-1}$) quando comparado com os outros porta-enxertos no mesmo tratamento. O porta-enxerto IAC 766 apresentou valores similares com relação às duas fontes de nitrogênio, ureia e nitrato de cálcio, $1439,88$ e $1442,42 \mu\text{mol sacarose. g. MS}^{-1}$, respectivamente.

Segundo Souza e Leonel (2011), folhas maduras produzem mais carboidratos do que necessitam para manterem suas atividades metabólicas e crescimento, e exportam os fotoassimilados excedentes, na forma de sacarose, para tecidos fotossinteticamente menos ativos ou inativos, como folhas jovens, raízes, cachos ou ramos. Desta maneira, o teor de sacarose estimado não apresentou diferença entre os tratamentos.

Quando avaliamos a influência das fontes de nitrogênio (Figura 2C), independentemente do porta-enxerto utilizado, verificamos que o alto teor de açúcar redutor na presença de ureia ($58,16 \mu\text{mol AR. g. MS}^{-1}$) foi significativamente superior quando comparado ao nitrato de cálcio.

O nitrogênio (N) é considerado nutriente essencial e participa da constituição do vegetal, formando os aminoácidos, proteínas, enzimas, ácidos nucleicos, clorofila e hormônios (TAIZ; ZEIGER, 2013). Na videira, a disponibilidade de nitrogênio é quase sempre fator limitante, influenciando o crescimento da planta mais do que qualquer outro nutriente.

A videira absorve nitrogênio na solução do solo na forma mineral, como nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+). Sua adubação é realizada em função das distintas fases fenológicas da planta e da necessidade de nutrientes em cada fase (BRUNETTO et al., 2009).

O nitrato (NO_3^-) é a principal forma de nitrogênio inorgânico disponível para as plantas e a nitrato redutase é a primeira enzima da rota de assimilação do N-inorgânico, possuindo papel de extrema importância no metabolismo vegetal (DELÚ FILHO et al., 1998).

Segundo Silva e Soares (2009), a resposta da videira ao nitrogênio está ligada às suas exigências, que variam durante as fases de desenvolvimento, à textura do solo, ao teor de matéria orgânica, ao pH do solo e ao teor de nitrogênio no solo. O nitrogênio é absorvido e transportado pelas videiras na forma de NO_3^- que sofre redução para NO_2^- e em seguida para NH_4^+ na presença da enzima redutase do nitrato (ALBUQUERQUE et al., 2009).

É possível compreender o metabolismo do nitrogênio assimilado pelas plantas de videira, através da quantificação pela metodologia *in vivo* da enzima redutase do nitrato (RN). A atividade da enzima RN nos tecidos foliares e nas raízes dos diferentes porta-enxertos da videira é demonstrada nas Figuras 3A e 3B, respectivamente.

Podemos observar na Figura 3A que houve um aumento da atividade da enzima redutase do nitrato (RN) na presença de nitrato de cálcio no tecido foliar, independentemente do porta-enxerto utilizado, sendo esses valores superiores aos observados quando utilizada ureia como fonte de nitrogênio. Segundo Santos, Almeida e Almeida (2012), a atividade da NR é induzida pelo seu substrato (NO_3^-), além de possuir período curto de atividade que varia diurnamente, além de estar associado aos fatores ambientais que afetam o fluxo de nitrato para os sítios de indução e assimilação.

Quando analisamos os resultados obtidos no sistema radicular (Figura 3B), os clones Harmony e IAC 766 apresentaram maior atividade da enzima na presença de nitrato de cálcio. Já o material propagativo SO4 não obteve grande destaque com a assimilação de N, quando utilizado nitrato de cálcio como fonte do nutriente, mas quando adubado com ureia obteve maiores valores da enzima RN.

É importante ressaltar que os valores da enzima RN no sistema radicular, apresentados na Figura 3B, estão visualizados em uma escala 10 vezes inferior aos valores obtidos na Figura 3A, ou seja, fica evidente que o metabolismo de assimilação do nitrogênio ocorre preferencialmente no tecido foliar das plantas.

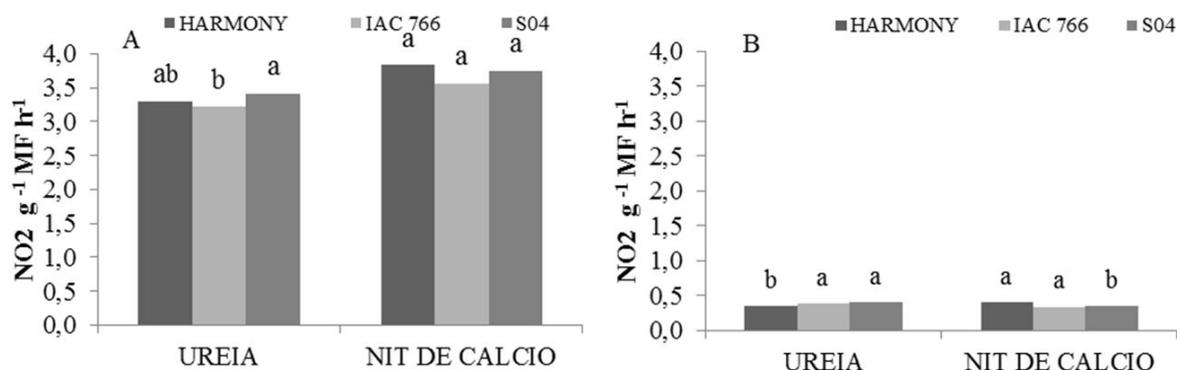


Figura 3. Atividade da enzima redutase do nitrato no tecido foliar (A) e no sistema radicular (B), em três porta-enxertos, submetidos aos tratamentos com ureia e nitrato de cálcio. Juazeiro-BA. As médias seguidas de mesma letra minúscula nos adubos não se diferenciam pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A explicação plausível é que as raízes de videiras mais velhas absorvem e transportam nitrato de forma ativa, entretanto, apresentam atividade diminuída, sendo um indicador para translocação do nitrato das raízes para parte aérea, onde apresentam maior atividade da redutase do nitrato (RN) (JIAO; BARABAS; LIPS, 2000).

A RN possui uma maior atividade quando se utiliza o nitrato como fonte de substrato, porém, o acréscimo da amônia no meio permite uma redução desta atividade. Tal comportamento pode ser explicado, pois a maior parte do amônio oriundo da degradação da ureia converte-se em nitrato.

Essa maior atividade da enzima, tendo como base o nitrato de cálcio, pode ser demonstrada, neste trabalho, no tecido foliar vegetal, contudo, esse comportamento não pode ser visualizado no tecido do sistema radicular.

As videiras aproveitam pequena quantidade de N do fertilizante aplicado via solo (BRUNETTO et al., 2009). Isso tem sido atribuído, em parte, à lixiviação de N do fertilizante no perfil do solo na forma de nitrato (N-NO_3^-) e até, possivelmente, há menor quantidade de amônio (N-NH_4^+), sendo eventos que ocorrem comumente em pomares de frutíferas, sendo possível de ocorrer também em vinhedos (BARLOW et al., 2009). Porém, a quantidade de N lixiviada é dependente, especialmente, da quantidade do N aplicado, do tipo de solo e do volume de precipitação ou do manejo da irrigação empregado pelo produtor.

Conclusões

Todos os porta-enxertos avaliados obtiveram uma alta disponibilidade de sacarose, auxiliando no mecanismo de transporte para a raiz, caule, ramo e fruto da planta.

A atividade da enzima redutase do nitrato é superior no tecido vegetal foliar, independentemente da fonte de nitrogênio utilizada.

O nitrato de cálcio apresentou maior rendimento na atividade da enzima RN do tecido foliar para todos os porta-enxertos, quando comparado com o uso de ureia na adubação.

Referências

ALBUQUERQUE, F. A. et al. Análise de crescimento inicial do *Jatropha curcas* em condições de sequeiro. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 13, p. 99-106, 2009.

BARLOW, K. et al. Nitrogen concentrations in soil solution and surface run-off on irrigated vineyards in Austrália. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v. 15, n. 2, p. 131-143, 2009. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1755-0238.2008.00042.x>.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, n. 1-2, p. 248-258, 1976. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).

BRUNETTO, G. et al. Produção e composição química da uva de videiras Cabernet Sauvignon submetidas à adubação nitrogenada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 7, p. 2035-2041, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782009005000162>.

CASALI, A. V. **Adubação orgânica em niágara rosada**: produção, estado nutricional e composição da uva e do mosto. 2011. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo)-Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

DANTAS, B. F.; RIBEIRO, L. S.; PEREIRA, M. S. Teor de açúcares solúveis e insolúveis em folhas de videiras, cv. syrah, em diferentes posições no ramo e épocas do ano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 29, n. 1, p. 42-47, 2007.

DELÚ FILHO, N. et al. Redução do nitrato e assimilação do amônio em plantas jovens de seringueira cultivadas sob níveis crescentes de nitrato. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 10, n. 3, p. 185-190, 1998.

FELDBERG, N. P. et al. Desempenho agrônomico das videiras 'Crimson Seedless' e Superior Seedless' no norte de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 6, p. 777-783, 2007.

JIAO, G.; BARABAS, N. K.; LIPS, S. H. Nitrate uptake, storage and reduction along the root axis of barley seedlings. In: MARTINS-LOUÇÃO, M.A. (Ed.). **Nitrogen in a sustainable ecosystem-from the cell to the plant**. Amsterdam: Kluwer, 2000. p. 1-8.

LEÃO, P. C. S.; BRANDÃO, E. O.; GONÇALVES, N. P. S. Produção e qualidade de uvas de mesa 'Sugraone' sobre diferentes porta-enxertos no Submédio do Vale do São Francisco. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 9, p. 1526-1531, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782011000900006>.

LIMA FILHO, J. M. P. et al. Aspectos fisiológicos. In: SOARES, J. M.; LEÃO, P. C. S. (Ed.). **A vitivinicultura no semiárido brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2009. p. 72-108.

MILLER, E. L. Use of dinitrosalicylic and reagent determination of sugar. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MOTA, R.V. et al. Produtividade e composição físico-química de bagas de cultivares de uva em distintos porta-enxertos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 6, p. 576-582, 2009.

SANTOS, R. R.; ALMEIDA, A. A. S.; ALMEIDA, J. C. R. Atividade da redutase do nitrato em mudas de açaizeiro adubadas com nitrogênio e potássio. **Revista Biociências**, Taubaté, v. 18, p. 13-17, 2012.

SILVA, D. J.; SOARES, J. M. Fertilização. In: SOARES, J. M.; LEAO, P. C. S. (Ed.). **A vitivinicultura no Semiárido brasileiro**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Petrolina: Embrapa Semiárido, 2009. p. 483-512.

SILVA, F. A. S. E.; AZEVEDO. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **African Journal of Agricultural Research**, Kenya, v. 11, n. 39, p. 3733-3740, 2016. <http://dx.doi.org/10.5897/AJAR2016.11522>.

SOUZA, A. P.; LEONEL, S. Uso da irrigação suplementar em figueira. In: LEONEL, S.; SAMPAIO, A. C. (Ed.). **A figueira**. São Paulo: UNESP, 2011. p. 177-194.

SOUZA, E. R. et al. Produção de videira 'superior seedless', cultivadas em diferentes tensões de água no solo. **Irriga**, Botucatu, v. 18, n. 2, p. 232-242, 2013. <http://dx.doi.org/10.15809/irriga.2013v18n2p232>.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 4. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2013. 690 p.

TEIXEIRA, L. A. J. et al. Alterações em atributos químicos de um solo submetido à adubação e cultivado com videira 'Niagara Rosada'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas,

- v. 33, n. 3, p. 983-992, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452011000300035>.
- XIA, G. H.; CHENG, L. L. Foliar urea application in the fall affects both nitrogen and carbon storage in young 'Concord' grapevines grown under a wide range of nitrogen supply. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 129, p. 653-659, 2004.
- YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrona. **The Biochemical Journal**, London, v. 57, n. 3, p. 508-514, 1954.

Recebido: 25 ago. 2017
Aprovado: 25 jun. 2018