

CRISTALOGÊNESE DO CLORETO DE COBRE APLICADA À MANDIOCA (*MANIHOT ESCULENTA* CRANTZ)*

IBRAHIM OCTAVIO ABRAHÃO **

JAIRO T. M. ABRAHÃO ***

RESUMO

A cristalização sensitiva do cloreto de cobre (método de Pfeiffer) é aplicada a extratos aquosos de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). São estudados os modelos de cristalização obtidos com extratos de folhas, caules, raízes e folhas de cultivares mansos e bravos, num total de 20 séries com 2 repetições. A descrição comparativa mostra que, embora os modelos de cristalização sejam morfológicamente pobres, o método é suficientemente sensível para estudos com mandioca, recomendando-se a ampliação da pesquisa visando à caracterização cristalogenética de cultivares.

INTRODUÇÃO

A hipótese básica da cristalização sensitiva é que, ao cristalizar por evaporação de soluções aquosas, os cristais de cloreto de cobre, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, assumem um hábito (modelo de cristalização) que é função específica de substâncias presentes na solução (companheiros de solução). A partir dessa premissa fundamental, enunciada por PFEIFFER (1930), numerosos trabalhos têm sido realizados com o método. Em sua maior parte, procuram determinar os modelos de cristalização causados pelos mais diversos companheiros de solução: substâncias puras (ácidos, bases, aminoácidos, etc.), extratos de órgãos de plantas e de animais e, especialmente, sangue, com o que se desenvolveu a técnica de diagnose por cristalização.

Poucos autores cogitaram da aplicação do método de Pfeiffer a plantas e a maior parte dos que o fizeram estudaram plantas medicinais.

* Os autores agradecem aos monitores Regina Antonia Liberal Valentino e Dioscórides Cavalcanti Cruz pelo auxílio prestado no trabalho de laboratório. Entregue à publicação em 17/12/1976.

** Departamento de Solos e Geologia.

*** Departamento de Agricultura e Horticultura

ABRAHÃO (1965) introduziu o método no Brasil, procurando aplicá-lo a questões agrônômicas. Estudando extratos aquosos de diferentes órgãos de 3 variedades de feijoeiro, em diferentes estágios de desenvolvimento, verificou a viabilidade do método e passou a aplicá-lo a outras plantas. O presente trabalho é mera decorrência dessa orientação: procura estudar a viabilidade de aplicação do método à mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). Não procura a solução de um problema específico, mas, tão somente, avaliar as possibilidades de aplicação da cristalização sensitiva a questões referentes a essa planta, especialmente a diferenciação cristalogenética de variedades. Com efeito, o caráter tóxico da mandioca, determinado pelo HCN produzido por ação da linamarase (enzima) sobre linamarina (glicosídeo cianogênico), não tem qualquer correlação com características morfológicas das plantas, sendo determinado apenas através de testes ou de dosagens do ácido (COURSEY, 1973).

REVISÃO DA LITERATURA

Desde que PFEIFFER (1930) mostrou a versatilidade da cristalização do cloreto de cobre na detecção de diferenças entre soluções, muitos trabalhos foram conduzidos, principalmente na Europa. A revisão que se apresenta trata apenas de trabalhos com plantas.

PFEIFFER (1930) assinala diferenças nos modelos causadas por adubação. PFEIFFER (1940) detecta, em modelos de cristalização de plantas sadias e atacadas por fungos, diferenças no número de centros e no comprimento dos cristais.

MORRIS e MORRIS (1938), aplicando o método à aveia, trigo e milho, amido e glicogênio, obtiveram modelos característicos para cada tipo de semente. Os amidos obtidos de cada um desses cereais, porém, produziam modelos equivalentes. Obtiveram, ainda, o que consideram a fração ativa dos extratos, responsável pelo modelo de cristalização. Pesquisaram a perda de atividade dos extratos, constatando sua diminuição em 24 horas, à temperatura ambiente, ou em 10 minutos, por aquecimento a 100°C. MORRIS e MORRIS (1939) comparam os modelos obtidos com glicogênio de origem animal e extrato concentrado de milho doce. Concluem que produzem modelos muito semelhantes, mas não idênticos. Glicogênios animal e de milho doce, porém, produzem modelos indistinguíveis. MORRIS e MORRIS (1941) procuram detectar a natureza de substâncias presentes com o glicogênio no extrato de milho doce, capazes de afetar o modelo de cristalização. Concluem que pequenas quantidades de proteínas podem afetar o modelo do polissacarídeo, embora sem efeito específico.

KRÜGER (1949) estuda, em extratos de *Hyosciamus niger*, a influência da hora de coleta de material, concluindo que o modelo decresce

em nitidez, conforme a coleta se faça de manhã, à tarde ou à noite. KRÜGER (1950) aplica o método a diferentes órgãos de diferentes espécies, a maior parte de caráter medicinal, procurando estabelecer correlação entre o modelo obtido e o do órgão para o qual a planta é medicinal.

SELAWRY e SELAWRY (1957) estudam pormenorizadamente a cristalização do cloreto de cobre, examinando todos os aspectos do método e o efeito exercido por fatores como temperatura, umidade relativa, taxa de evaporação, concentração, limpeza das placas e outros. Estudam os modelos obtidos com substâncias puras, extratos de plantas, de tecidos animais e sangue. Estudam de maneira sistemática e minuciosa os caracteres morfológicos que devem ser considerados nos modelos de cristalização. O capítulo referente a plantas é o menos pormenorizado, assinalando-se, todavia, ser possível a distinção cristalogenética de ervilhas cultivadas em solos argilosos e arenosos, e de ervilhas adubadas mineral e organicamente.

ABRAHÃO (1965) aplica o método a extratos aquosos de diferentes órgãos (raízes, caules, folhas, flores, frutos e sementes) de 3 variedades de feijoeiro, em diferentes estágios de desenvolvimento. Conclui que a melhor concentração para ensaios comparativos é 0,05:0,5. Conclui, ainda, que os modelos de cristalização variam especificamente em função de variedade, órgão e idade da planta. ABRAHÃO (1970) aplica o método a sementes de café, com o objetivo principal de estabelecer as melhores concentrações a serem usadas com esse material. Recomenda o emprego da técnica da mistura filtrada e concentrações, por placa, entre 0,05 e 0,075 g para extrato, e entre 0,5 e 1,0 g, para cloreto. ABRAHÃO (1971) faz uma revisão crítica sobre as possibilidades de aplicação do método a questões biológicas, especialmente as agrônômicas. ABRAHÃO (1971) estuda com pormenores a morfologia do cloreto de cobre na presença de extratos aquosos de feijoeiro. ABRAHÃO (1975), com base em trabalhos anteriores, aplica o método exclusivamente a sementes de feijoeiro, cujo modelo de cristalização é constante e característico. ABRAHÃO (1976) discute a possibilidade de distinção cristalogenética de cultivares de feijoeiro, assinalando os caracteres que podem permiti-la.

MATERIAL E MÉTODO

MATERIAL

Cultivares — Utilizaram-se, em todas as cristalizações, dois cultivares de mandioca, um manso e um bravo. Nas duas primeiras cristalizações usaram-se os cultivares Carapé (manso) e Branca de Santa Catarina (bravo). Na última, usaram-se Jaçanã (manso) e Brava de Itu (bravo). Em todos os casos, as plantas foram cultivadas em solo.

Câmara de cristalização — Utilizou-se a câmara especial recomendada por SELAWRY e SELAWRY (1957) e descrita por ABRAHÃO (1965), com dimensões 1,60 x 1,60 x 2,0 m, paredes duplas e adiabáticas, com dispositivo para manter a temperatura constante até 50°C. A câmara dispõe de mesa de vidro suspensa, de 0,70 x 1,50 x 0,01 m, rigorosamente nivelada (nível Wyler, precisão de 0,02 mm/m), onde se processa a evaporação das soluções nas placas.

Placas de cristalização — Foram utilizadas placas de vidro especialmente montadas para esse fim segundo recomendações e dimensões de SELAWRY e SELAWRY (1957) e modificações de ABRAHÃO (1965).

Cloreto de cobre e Material fotográfico — Usou-se cloreto de cobre puríssimo p-a. Merck, filmes 35 mm Kodak Panatomic - X e Papel kodabromide F-4, que permitem grandes ampliações.

MÉTODOS

Técnica de cristalização — A técnica utilizada para ambiente de trabalho, velocidade de cristalização, controle de temperatura e umidade, nivelamento, limpeza das placas de cristalização, obtenção de extrato e decurso de cristalização é a que recomendam SELAWRY e SELAWRY (1957), com modificações sugeridas por ABRAHÃO (1965).

Planejamento — Foram efetuadas 20 séries de cristalização, com 2 repetições, em conjuntos de 8, 8 e 4 séries, num total de 40 placas estudadas. Os resultados obtidos nas séries 1 a 8 foram a base para as séries 9 a 16 e os destas a base para 17 a 20. A intenção experimental foi, basicamente, testar, de início, todos os órgãos da planta, a fim de se chegar ao melhor órgão para distinguir cultivares. Usou-se, então, o seguinte esquema experimental:

- 1.^a *cristalização*: Os 8 tratamentos foram: 4 órgãos (folha, caule, raiz e flor) de 2 cultivares (manso e bravo), na concentração 0,05: 0,5, com 2 repetições.
- 2.^a *cristalização*: Os 8 tratamentos foram: 4 órgãos (folha, caule, raiz e flor) de 2 cultivares (manso e bravo), na concentração 0,05:0,75, com 2 repetições.
- 3.^a *cristalização*: Os 4 tratamentos foram: 2 órgãos (folha e raiz), de 2 cultivares (manso e bravo), na concentração 0,075:0,75, com 2 repetições.

As placas foram descritas de maneira conjunta e comparativa de modo a se ressaltar os caracteres possivelmente diferenciais entre os cultivares manso e bravo. Selecionaram-se 10 placas para fotografias,

mostrando, na maior parte, caracteres contrastantes entre os cultivares de cada cristalização.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.ª cristalização — Utilizou-se, nas 8 séries, a concentração 0,05:0,5, usada com êxito para outras plantas (SELAWRY e SELAWRY, 1957, ABRAHÃO, 1965, 1970). As seguintes observações podem ser feitas pelo exame das placas:

a — *Descrição morfológica*

1. Os modelos de cristalização dos 8 tratamentos são pobres em caracteres morfológicos.

2. Os modelos podem ser descritos com identidade boa, com características suficientemente equivalentes para que não se cogite de maior número de repetições em testes preliminares com mandioca.

3. Morfologicamente, para ambas as variedades, os modelos têm diferenciação geral, coordenação e irradiação más, com borda mal definida. É geral o tipo vitrificado de cristalização. Praticamente ausentes formas vazias bem delimitadas, bem como anéis concêntricos, cuja tendência, porém, pode ser observada em algumas placas. De um modo geral, a cristalização é fina, com cristalização fibrosa freqüente e zonas de cobertura total na região central, com ondas.

b — *Diferenciação entre cultivares manso e bravo*

1. *Folha*. Distinção perfeita, nas duas repetições. Caracteres diferenciais são a zona central com ondas e cobertura total no modelo do cultivar manso e melhor diferenciação geral, ausência de ondas e presença de formas vazias rudimentares, no modelo do cultivar bravo (fig. 1).

2. *Caule*. Distinção difícil. Aparentemente, a cristalização é mais fibrosa para o cultivar manso e com mais ondas na cristalização central para o cultivar bravo (figs. 2 e 3).

3. *Raiz*. Distinção difícil, prejudicada pela identidade das repetições dos cultivares manso e bravo.

4. *Flor*. Distinção perfeita, mesmo considerando que a identidade para o cultivar manso não é satisfatória. Caracteres diferenciais são cristalização central de cobertura total, para o modelo do cultivar manso, e tendência para formas vazias rudimentares, para o modelo do cultivar bravo (figs. 4 e 5).

2.^a cristalização — os resultados obtidos na 1.^a cristalização sugerem insuficiência na concentração do cloreto de cobre, impedindo maior definição dos modelos. A 2.^a cristalização é, pois, a repetição da primeira, com a concentração 0,05:0,75. Observou-se, como caráter geral, que a cor da cristalização é mais clara para os modelos do cultivar manso.

a — *Descrição morfológica*

1. Confirmam-se os resultados da cristalização anterior: os modelos são morfológicamente pobres.

2. Identidade regular para os 4 órgãos do cultivar manso, um pouco pior para os do cultivar bravo.

3. Cristalização fina em todas as placas de todas as repetições. Diferenciação geral, coordenação e irradiação más. Cristalização vitrificada comum aos 8 tratamentos, com cristalização fibrosa freqüente. Cristalização central geralmente com cobertura total e pequena individualidade das agulhas. Borda mal diferenciada, com anéis concêntricos ausentes ou rudimentares. Formas vazias rudimentares ou totalmente ausentes.

b — *Diferenciação entre cultivares manso e bravo*

1. *Folha*. Distinção segura, mesmo diante da má identidade das repetições do cultivar manso. Os caracteres diferenciais pertencem ao cultivar manso: formas vazias rudimentares, menor quantidade de deposições, menor quantidade de cristalização fibrosa (fig. 6).

2. *Caule*. Deficiência de identidade compromete a distinção.

3. *Raiz*. Embora a identidade também seja deficiente, observa-se que o modelo para o cultivar bravo é de cor mais escura, com pequena tendência para formas vazias e cristalização fibrosa mais localizada na periferia. O modelo do cultivar manso tem maior cobertura na cristalização central e exhibe anéis concêntricos.

4. *Flor*. Distinção segura. Caracteres diferenciais são o tipo de borda mais larga, para cultivar manso e maior área de cristalização central para o modelo do cultivar bravo, que tem, também, melhor individualidade e nitidez de centros de cristalização (figs. 7 e 8).

3.^a cristalização — Decidiu-se empregar a concentração 0,075:0,75 para as duas variedades, apenas para folhas e raízes, uma vez que, dos órgãos que mostraram possibilidade de distinção, são os únicos que existem a qualquer época.

a — *Descrição morfológica*

1. Confirmam-se, de maneira geral, as observações das cristalizações anteriores, embora tenha ocorrido, para raiz do cultivar manso, uma sensível melhoria na configuração geral do modelo.

2. Identidade perfeita para os 4 tratamentos.

3. Modelos de cristalização com diferenciação geral, coordenação e irradiação más. Cristalização fina abundante, incluindo cristalização fibrosa. As 4 séries são indistinguíveis quanto a cor.

b — *Diferenciação entre cultivares manso e bravo*

1. *Folha*. Distinção difícil, embora possível. O caráter diferencial mais nítido é que, para o cultivar bravo, a cristalização central é mais separada da borda. Parece ser distintivo para essa variedade uma cor mais escura na cristalização central o que acentua a nitidez do contraste com a borda, de tipo vitrificado (figs. 9 e 10).

2. *Raiz*. Distinção perfeita. Cristalização central bem definida, com centros nítidos, irradiação e coordenação boas. Borda mal diferenciada e espelhada. Alguns anéis concêntricos são nítidos e formas vazias muito pequenas estão junto dos centros de cristalização. Esses caracteres são diferenciais para o cultivar manso. Para o cultivar bravo, o único caráter comum com o manso é a presença de anéis concêntricos.

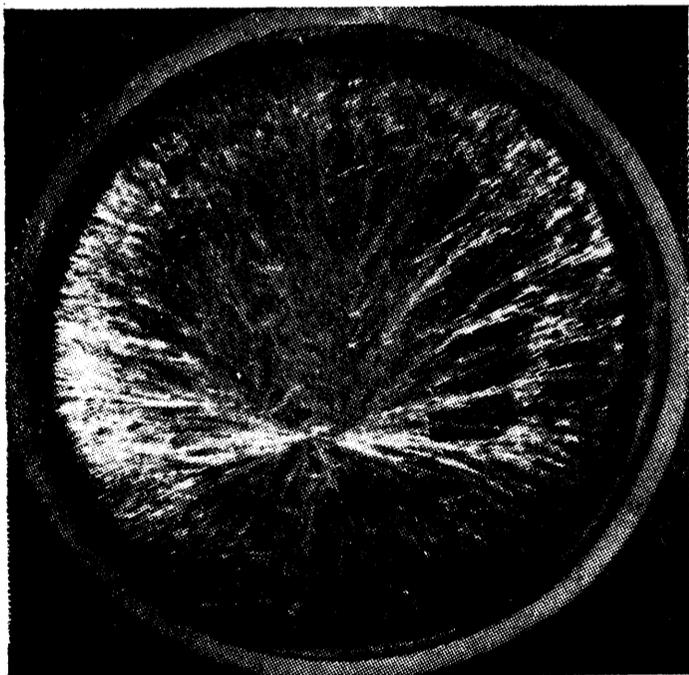


Fig. 1: folha, cultivar bravo, 0,05:0,5, x $\frac{2}{3}$

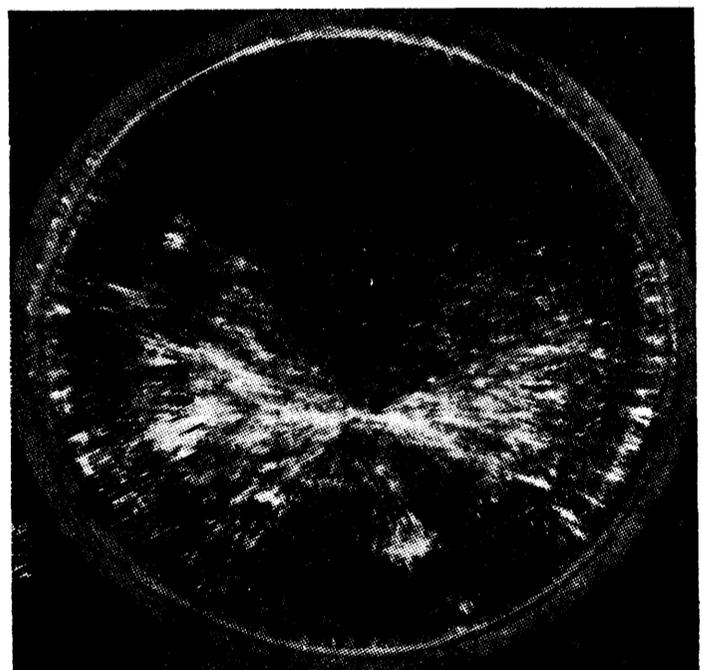


Fig. 2: caule, cultivar manso, 0,05:0,5, x $\frac{2}{3}$

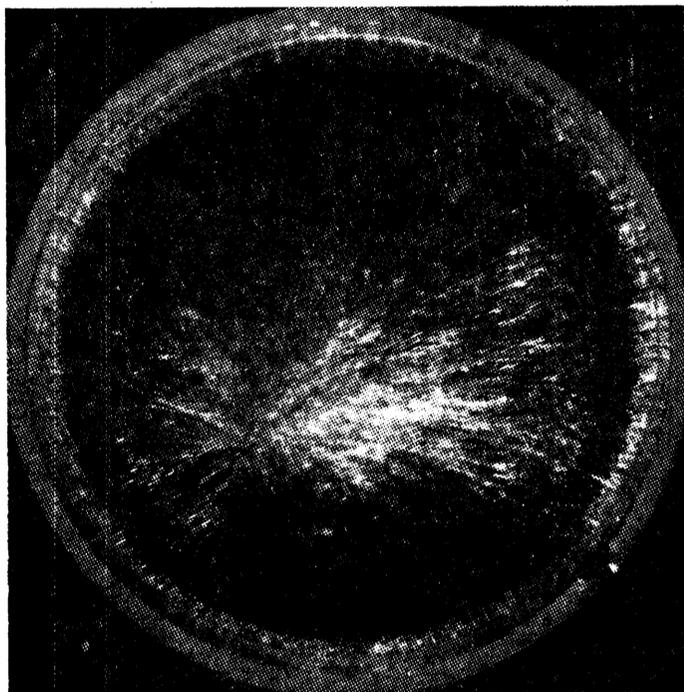


Fig. 3: caule, cultivar manso, 0,05:5,5, x $\frac{2}{3}$

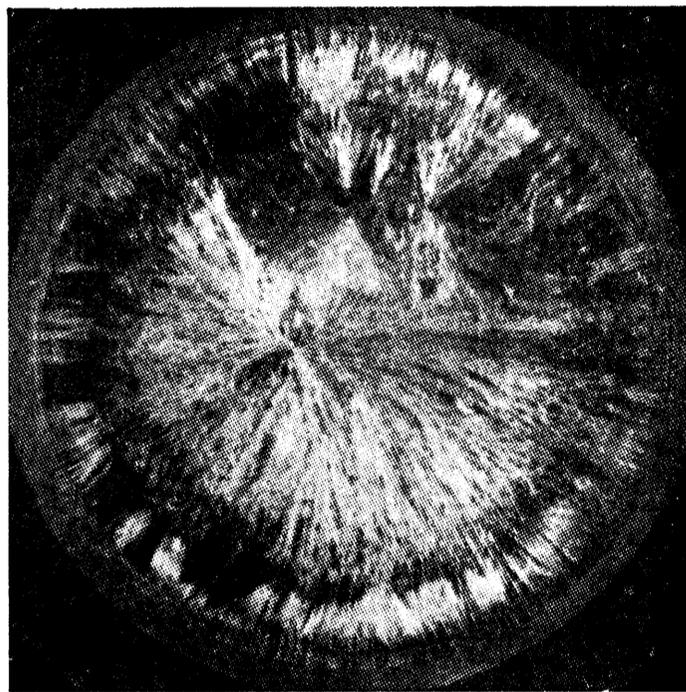


Fig. 4: flor, cultivar manso, 0,05:0,5, x $\frac{2}{3}$

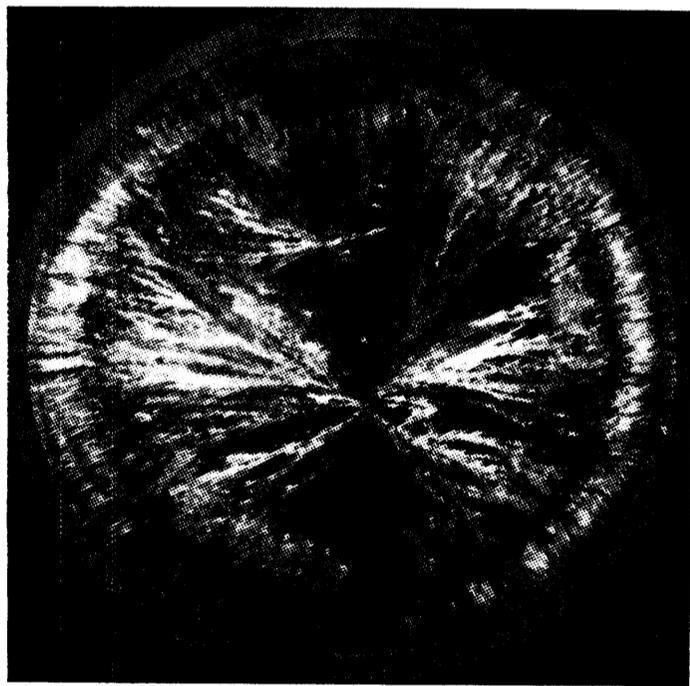


Fig. 5: flor, cultivar bravo, 0,05:0,5, x $\frac{2}{3}$

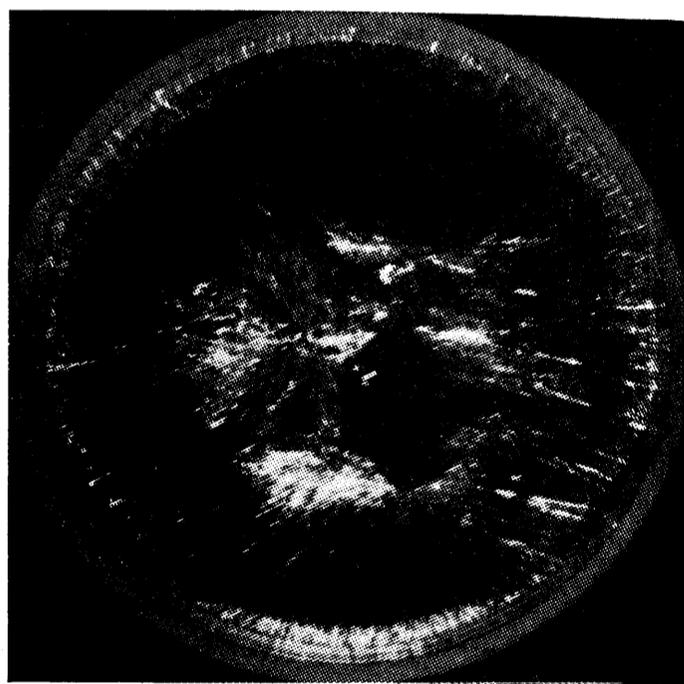


Fig. 6: folha, cultivar manso, 0,05:0,75, x $\frac{2}{3}$

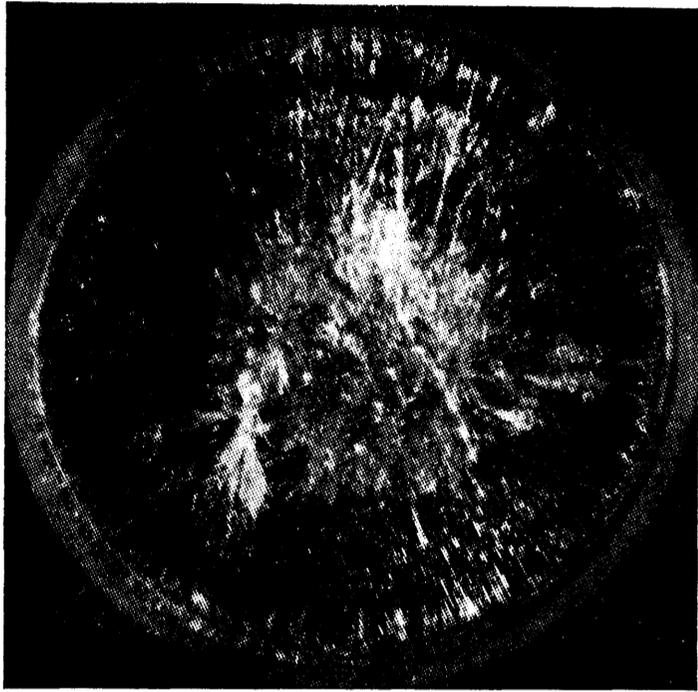


Fig. 7: flor, cultivar bravo, 0,05:0,75 x $\frac{2}{3}$



Fig. 8: flor, cultivar manso, 0,05:0,75, x $\frac{2}{3}$

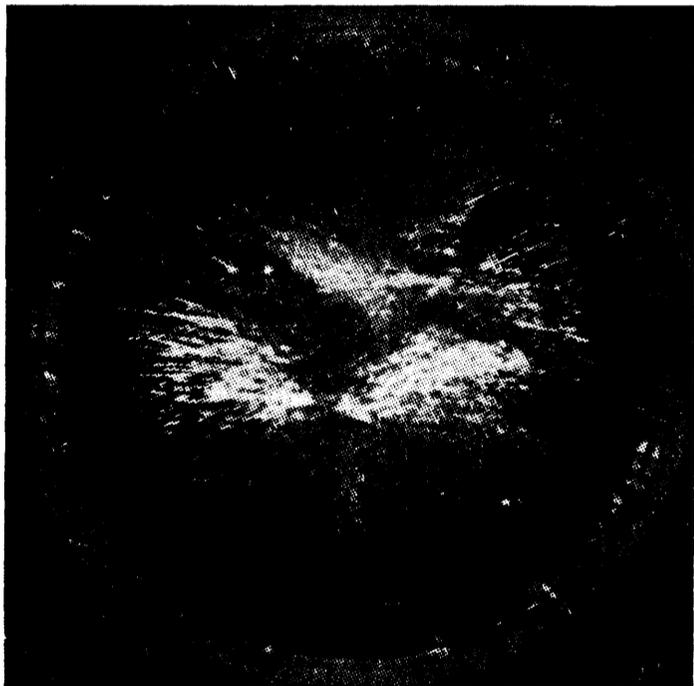


Fig. 9: folha, cultivar bravo, 0,075:0,75, x $\frac{2}{3}$



Fig. 10: folha, cultivar manso, 0,075:0,75,x $\frac{2}{3}$

CONCLUSÕES

1. A principal conclusão que permitem os resultados experimentais é que o método de Pfeiffer mostra, para a espécie *M. esculenta* Crantz, sensibilidade suficiente para ser um processo viável no estudo de questões referentes a essa planta. Essa afirmativa encontra apoio na variação encontrada nos modelos de cristalização, obtidos simultaneamente, de órgãos diferentes e de cultivares diferentes.

2. A configuração geral dos modelos de cristalização obtidos para os diferentes órgãos pode ser descrita como morfológicamente pobre. Em ambas as concentrações, os modelos mostram-se de má diferenciação geral, coordenação e irradiação, predominantemente constituídos de cristalização fina ou fibrosa. É sistemática a ausência de diferenciação da borda, o que pode ser caráter cristalogênico da espécie. Também a ausência de formas vazias é geral. A pobreza morfológica dos modelos não significa, porém, que sejam inadequados para pesquisas em mandioca.

3. Mostrou-se ser possível a distinção cristalogenética entre cultivares, principalmente através de modelos de folhas, flores e raízes. A distinção possível através de modelos de cristalização de folhas e raízes é a mais animadora, em especial para folhas, já que são disponíveis em todo o ciclo da planta.

4. Recomenda-se, em face dos resultados obtidos e do objetivo específico do trabalho, que se proceda a um estudo mais profundo do problema da distinção de cultivares através de modelos de cristalização. Devem ser testadas outras concentrações em folhas de plantas novas, obtidas preferencialmente de soluções nutritivas, com o fim de diminuir as causas de variação dos modelos.

SUMMARY

COPPER CHLORIDE CRYSTALLIZATION APPLIED TO CASSAVA (*MANIHOT ESCULENTA* CRANTZ)

The sensitive crystallization of copper chloride (Pfeiffer's method) is applied to aqueous extracts from leaves, stems, roots and flowers from two varieties, toxic and non toxic, of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). The comparative description of the 20 series studied shows that, even though the crystallization patterns are morphologically poor, the method has enough sensibility to be used in cassava problems. The application of sensitive crystallization in differentiation of varieties is recommended.

LITERATURA CITADA

- ABRAHÃO, I.O. 1965 — Cristalogênese do cloreto de cobre. Aplicação do método de Pfeiffer ao feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Tese de doutoramento apresentado à ESALQ, 134 p.
- ABRAHÃO, I.O. 1970 — Aplicação do método de Pfeiffer a sementes de café (*Coffea arabica* L.). Anais da ESALQ — Piracicaba, vol. XXVII, 61-71.
- ABRAHÃO, I.O. 1971 — Cristalogênese do cloreto de cobre aplicada a problemas boilógicos. Revista da Agricultura, vol. XLVI, n.º 2-3, 121-128.

- ABRAHÃO, I.O. 1971 — Morfologia do cloreto de cobre na presença de extratos aquosos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Anais da ESALQ, Piracicaba, vol. XXVIII, 129-216.
- ABRAHÃO, I.O. 1975 — Cristalogênese do cloreto de cobre: efeito de extratos de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Anais da ESALQ, n.º 62, vol. 32.
- ABRAHÃO, I.O. 1976 — Distinção de cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) através de cristalização sensitiva. Enviado à publicação. Anais da ESALQ, vol. 33.
- COURSEY, D.G. 1973 — Cassava as food: toxicity and technology, p. 27-36. In Chronic Cassava Toxicity: Proceedings of an interdisciplinary Workshop, London, England, 29-30 January 1973. Int. Develop. Res. Centre — Ottawa, Canadá — IDRC — 0102.
- KRUGER, H. 1949 — Tagezeiten — Rhythmen bei Pflanzen. Weleda — Nachrichten 22, 8-11.
- KRUGER, H. 1950 — Kupferchlorid — Kristallisationen, ein Reagens auf Gestaltungs-kräfte des Lebendigen. Weleda Schriftenreihe Heft 1, 5-30.
- MORRIS, D.L. e C.T. MORRIS. 1938 — Specific effects of certain tissue extracts on the crystallization pattern of cupric chloride. Journal of Physical Chemistry 43, 623-629.
- MORRIS, D.L. e C.T. MORRIS. 1939 — Glycogen in the seed of *Zea mays* (var. golden bantan). The Journal of Biological Chemistry. Baltimore, U.S.A., vol. 130, 535-544.
- MORRIS, D.L. e C.T. MORRIS. 1941 — The modification of cupric chloride crystallization patterns by traces of proteins. The Journal of Biological Chemistry. Baltimore, U.S.A. Vol. 141, 515-521.
- PFEIFFER, E. 1930 — Kristalle, Orient — Occident — Verlag. Stuttgart, Alemanha, 81 p.
- PFEIFFER, E. 1940 — Sensitive Crystalization. Chemical products and the chemical news. Londres, n.º 3, 21-25.
- SELAWRY, A. e O. SELAWRY. 1957 — Die Kupferchloridkristallisation in Naturwis-senschaft und Medicin. Gustav Fischer — Verlag, Stuttgart, Alemanha, 232 p.

