

Fontes de nitrogênio foliar e atividade da nitrato redutase em mogno

Nitrogen sources in the foli of nitrate reductase activity in mahogany

Luís Henrique Soares¹; *Evandro Binotto Fagan*²; *Derblai Casarol*²
*Karla Vilaça Martins*³; *André Luís Soares*¹;
*Elmiro Correa Peres*¹; *Daniel Moreira de Andrade*¹

1. Graduando do curso de Agronomia, Centro Universitário de Patos de Minas, MG.
 2. Professor Doutor do Centro Universitário de Patos de Minas, Patos de Minas, MG.
 3. Aluna de pós-graduação, Centro Universitário de Patos de Minas, Patos de Minas, MG.
-

Resumo: O presente trabalho foi realizado em casa de vegetação, utilizando plantas de Mogno com o objetivo de avaliar a influência da aplicação foliar de diferentes fontes de nitrogênio. As plantas foram cultivadas em vasos de 10 litros contendo solo classificado como Latossolo Vermelho. Utilizou-se o delineamento experimental de blocos casualizados, constituído por quatro tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos utilizados foram: T₁ testemunha (sem aplicação); T₂ uréia (CO(NH₂)₂); T₃ nitrato de potássio (KNO₃) e T₄ fertilizante quelatado por aminoácido (FQA) (N 5%, P₂O₅ 8%, K₂O 8%, Ca 1,0%, S 2,4%, Mg 0,5%, B 0,6%, Cu 0,2%, Mn 0,5%, Mo 0,2%, Zn 1,0%, Carbono Orgânico Total 12%). A atividade da enzima nitrato redutase foi maior nas plantas que receberam a aplicação foliar de aminoácidos em relação às plantas em que foi aplicada uréia.

Palavras-chave: Aminoácido. Aplicação foliar. 3 *Swietenia macrophylla* King.

Abstract: This work was conducted in a greenhouse by using plants of Mahogany with the objective to evaluate the leaf application of different nitrogen sources. Plants were grown in pots containing 10 liters of soil classified oxisol. We used a randomized block design consisting of four treatments and four replications. The treatments were: T₁ control (no application), T₂ urea (CO(NH₂)₂), T₃ potassium nitrate (KNO₃) and T₄ fertilizer chelated by amino acid (N 5%, P₂O₅ 8% K₂O 8%, Ca 1.0 %, S 2.4%, Mg 0.5%, B 0.6%, Cu 0.2%, Mn 0.5% Mo 0.2%, Zn 1.0%, Total Organic Carbon 12%) . The nitrate reductase activity was higher in plants that received leaf application of amino acids when compared to plants in which were applied urea.

Key words: 1. Aminoacid. Leaf application. 3 *Swietenia macrophylla* King.

O mogno (*Swietenia macrophylla* King) é uma espécie de grande importância econômica, pelo fato de sua madeira ser utilizada para a confecção de móveis de luxo e artigos de decoração. A madeira do mogno possui alta durabilidade e bom acabamento, tornando-se assim uma das espécies mais importantes da Amazônia, devido à sua elevada extração (COUTO, 2002).

O nitrogênio (N) é um dos nutrientes minerais mais requeridos pelas plantas e, geralmente, é o que mais limita o crescimento. Porém sua disponibilidade nos solos brasileiros é baixa. Nas plantas é um componente responsável por várias reações, além de fazer parte da estrutura da clorofila, de enzimas e proteínas (TAIZ; ZIEGER, 2004; GROSSMAN; TAKAHASHI, 2001). A deficiência deste elemento ocasiona clorose em folhas velhas, reduzindo a taxa fotossintética e, conseqüentemente, o crescimento e produtividade das culturas (GROSSMAN; TAKAHASHI, 2001).

As plantas absorvem N na forma de NO_3^- , NH_4^+ ou através da fixação biológica do N_2 (FAGAN et al., 2007). A absorção de amônio (NH_4^+) ocorre de forma passiva por difusão, quando as concentrações externas destes íons forem altas (WILLIAMS; MILLER, 2001), porém o amônio é tóxico para as plantas e precisa ser rapidamente assimilado, o que evita seu acúmulo nos tecidos. O nitrato (NO_3^-) é absorvido de forma ativa via simplasto, sendo que uma pequena parte deste íon permanece no citoplasma, e outra é armazenada no vacúolo celular ou redistribuída para outros tecidos para ser assimilado pela planta (BONATO et al., 1998). O nitrato pode ser reduzido nas folhas ou nas raízes, através da enzima nitrato redutase, produzindo o nitrito que posteriormente é reduzido pela nitrito redutase, formando NH_4^+ , forma pela qual o N é utilizado pelas plantas (TAIZ; ZEIGER, 2004).

A nitrato redutase é uma enzima presente no citosol das células corticais da epiderme da raiz e nas células mesofílicas da parte aérea. É formada por duas subunidades idênticas com três grupos prostéticos cada: FAD, heme e um complexo entre o molibidênio e o cobalto e uma pterina. A atividade da Nitrato Redutase (ANR) é incrementada com o aumento de carboidratos e luz, e reduzida com acréscimos de NH_4^+ e Aa (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Outra prática que vem sendo adotada no manejo nutricional das culturas é a aplicação de aminoácidos. O uso destes produtos em pulverizações foliares está se tornando cada vez mais frequente, embora existam algumas controvérsias quanto à absorção pelas plantas (VIEIRA; CASTRO, 2000). Sendo assim a quantificação da ANR é um parâmetro importante para a avaliação de sua forma de absorção.

Com base no exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da aplicação de amônio, nitrato e aminoácidos na atividade da enzima nitrato redutase em plantas de mogno.

O experimento foi conduzido durante o mês de junho de 2009, em casa de vegetação na Faculdade de Engenharias e Ciências Agrárias, Campus I do Centro Universitário de Patos de Minas, em Patos de Minas, MG, situada na região do Alto Paranaíba, com 815 m de altitude, $18^\circ 34'S$ e $46^\circ 31'O$.

Foram utilizadas plantas de mogno, espécie *Swietenia macrophylla* King. As plantas foram transplantadas dos tubetes para vasos plásticos quando apresentaram cinco pares de folhas. Foram utilizados vasos de 10 litros preenchidos com solo classificado como Latossolo Vermelho.

O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados constituído por quatro tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos utilizados foram: T₁ testemunha (sem aplicação); T₂ uréia ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$); T₃ nitrato de potássio (KNO_3) e T₄ fertilizante quelatado por aminoácido (FQA) (N 5%, P_2O_5 8%, K_2O 8%, Ca 1,0%, S 2,4%, Mg 0,5%, B 0,6%, Cu 0,2%, Mn 0,5%, Mo 0,2%, Zn 1,0%, Carbono Orgânico Total 12%). Os tratamentos T₂ e T₃ foram aplicados na concentração de 0,5% L^{-1} e o T₄ na concentração de 1% L^{-1} . Todos os tratamentos foram aplicados com volume de calda de 200 L ha^{-1} .

Uma semana após o transplante foi realizada uma avaliação foliar da ANR nas folhas das plantas. Para esta foram retiradas amostras de três folhas do terço superior da planta completamente expostas à luz em quatro plantas por tratamento. As análises foram feitas no 1.º, 3.º e 8.º dias após a aplicação (DAA) das 9 às 11 horas.

A ANR foi determinada conforme a metodologia proposta por Cataldo et al. (1975). Assim as folhas foram cortadas em pedaços pequenos, das quais foram colocados 200 mg em tubos de ensaio de 15 ml com tampas que continham 4 mL de KNO_3 0,25 M em tampão fosfato. Os tubos de ensaio foram envolvidos em papel de alumínio e mantidos em banho-maria a 35°C durante 2 h agitado de 5 em 5 minutos. Logo depois foi pipetado 1 mL da solução de cada tubo de ensaio para balão volumétrico de 50 mL para cada um dos respectivos tratamentos, evitando-se pedacinhos de folhas. Em seguida colocou-se H_2O destilada até completar 25 mL do balão e, a seguir, 1 mL de ácido sulfanílico. Esta solução foi mantida em repouso de 5 a 10 minutos. Posteriormente foi adicionado 1 mL de alfa-naftalamina e 1 mL do tampão de acetato de sódio e completou-se o volume a 50 mL com H_2O destilada. A leitura foi realizada depois de 10 e antes de 30 minutos no espectrofotômetro, o qual foi ajustado ao valor zero com água destilada, a uma leitura de 540nm.

A estimativa da atividade da enzima nitrato redutase foi obtida através da curva padrão de nitrito (NO_2^-), ajustada de acordo com as concentrações de N na forma de NO_2^- de 0, 5, 10, 15, 20 e 25 $\mu\text{g L}^{-1}$. A partir das absorvâncias, ajustou-se o gráfico (concentração x leitura) obtendo-se a equação de regressão linear ($y = ax + b$). De acordo com esses dados procedeu-se ao cálculo da atividade da enzima nitrato redutase (Equação 1)

$$\text{ANR} = 5.FV.4.CN.0,5 \quad (1)$$

em que: ANR refere-se à atividade da enzima nitrato redutase em $\mu\text{g N-NO}_2 \text{ g de fitomassa verde}^{-1} \text{ h}^{-1}$; FV é a quantidade de fitomassa verde colocada no tubo de ensaio (200 mg); CN é a concentração de nitrito (mg L^{-1}) obtida pela equação ajustada pela curva padrão de acordo com a absorvância da amostra; e os valores 5, 4 e 0,5 foram utilizados na correção dos valores para $\mu\text{g N-NO}_2$ por g de fitomassa verde por hora.

Os valores estimados de ANR, obtidos nos diferentes tratamentos, foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o software estatístico Assitat, tendo suas médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

A atividade da enzima nitrato redutase (ANR) das plantas em que foi aplicado FQA (T_4), ao 1.º DAA, apresentou um incremento de 69%, 78% e 60% em relação a T_1 , T_2 e T_3 , respectivamente (figura 1a).

Ao 3.º DAA houve redução na ANR em valores absolutos em relação à 1ª avaliação; entretanto, o T_4 ainda foi superior em 20%, 49% e 12%, respectivamente, de acréscimo quando as plantas foram tratadas com FQA (figura 1b). Ao 8.º DAA o incremento na ANR, quando se aplicou FQA, foi de 8,42, 10,26 e 6,98 $\mu\text{g N-NO}_2 \text{ g fitomassa fresca h}^{-1}$ em relação a T_1 , T_2 e T_3 respectivamente, representando 38%, 46% e 31% a mais em relação aos demais tratamentos (Figura 1c).

O teor de nitrato e a luz são fatores importantes na indução e manutenção da atividade da nitrato redutase nos tecidos vegetais (VINCENTZ et al., 1993). A ANR também é influenciada pelo molibdênio, cofator da enzima, sendo que a deficiência desse elemento pode reduzir a sua atividade pela concentração de amônio e aminoácidos (SMIRNOFF et al., 1984; CAMPOS, 2009). Estes fatores podem ter contribuído para a maior

atividade da enzima no T₄ (figura 1), pois o produto utilizado no experimento além de ser quelatizado por aminoácidos apresentava teores de macro e micronutrientes.

Campbell (1999) também relata que o fluxo catalítico da nitrato redutase ou a capacidade total de redução do nitrato pelas plantas depende da presença do substrato (NO₃⁻) e da disponibilidade de cofatores e íons metálicos, FAD, heme, Fe, Mo-MPT (molibdênio – molibdopterina) e Mo. De acordo com Vieira e Castro (2000), os aminoácidos podem formar complexos com cátions como Zn²⁺, Cu²⁺, Mn²⁺ e Fe³⁺ aumentando sua disponibilidade para as plantas.

A atividade da enzima nitrato redutase é maior em mudas de mogno que receberam aplicação foliar de aminoácidos quando comparada àquelas que não foram tratadas e àquelas em que foram aplicados uréia e nitrato de potássio.

Referências

- BONATO, C. M.; RUBIN FILHO, C. J.; MELGES, E.; SANTOS, V. *Nutrição mineral de plantas*. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 137p, 1998.
- CAMPBELL, W. H. Nitrate reductase structure function and regulation on bridging to gap between biochemistry and physiology. *Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology*, v. 50, p. 277-303, 1999.
- CAMPOS, M. M. S. *Ecofisiologia do uso de nitrogênio em espécies arbóreas da Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas*. Ubatuba, SP. 2009.113f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) - Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, 2009.
- CATALDO, D.A.; HAROON, M.; SCHRADEV, L.E.; YOUNGS, V.L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. Athens, v. 6, p. 71-80, 1975.
- COUTO, J.M.F. *Germinação e morfogênese in vitro de Mogno (Swietenia macrophylla King)*. 2002. 71f. Dissertação de Mestrado (Pós-graduação em Ciência Florestal). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.
- FAGAN, E. B.; MEDEIROS, S. L. P.; MANFRON, P. A.; CASAROLI, D.; SIMON, J.; DOURADO NETO, D.; LIER, Q. J. V.; SANTOS, O. S.; MÜLLER, L. Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja: revisão. *Revista da FZVA. Uruguaiana*, v. 14, n. 1, p. 89-106, 2007.
- GROSSMAN, A.; TAKAHASHI, H. Macronutrient utilization by photosynthetic eukaryotes and the fabric of interactions. *Annual Review Plant of Physiology*. v. 52, p. 163-230, 2001.
- SMIRNOFF, N.; TOOD, P.; STEWART, G. R. The occurrence of nitrate reduction in the leaves of woody plants. *Annual Botanical*, v. 54, p. 363-374, 1984.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.
- VIEIRA, E. L.; CASTRO, P. R. C. *Ação de Stimulate na germinação de sementes, vigor de plântulas e crescimento radicular de plantas de milho (Zea mays L.)*. Piracicaba: Esalq – USP, 2000. 15 p. (relatório técnico).

VINCENTZ, M.; MOUREAUX, T.; LEYDECKER, M. T. Regulation of nitrate and nitrite reductase expression in *Nicotiana plumbaginifolia* Leaves by nitrogen and carbon metabolites. *Plant Journal*, v. 3, p. 313-324, 1993.

WILLIAMS, L. E.; MILLER, A. J. Transporters responsible for the uptake and partitioning of nitrogenous solutes. *Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology*, v. 52, p. 659-688, 2001.

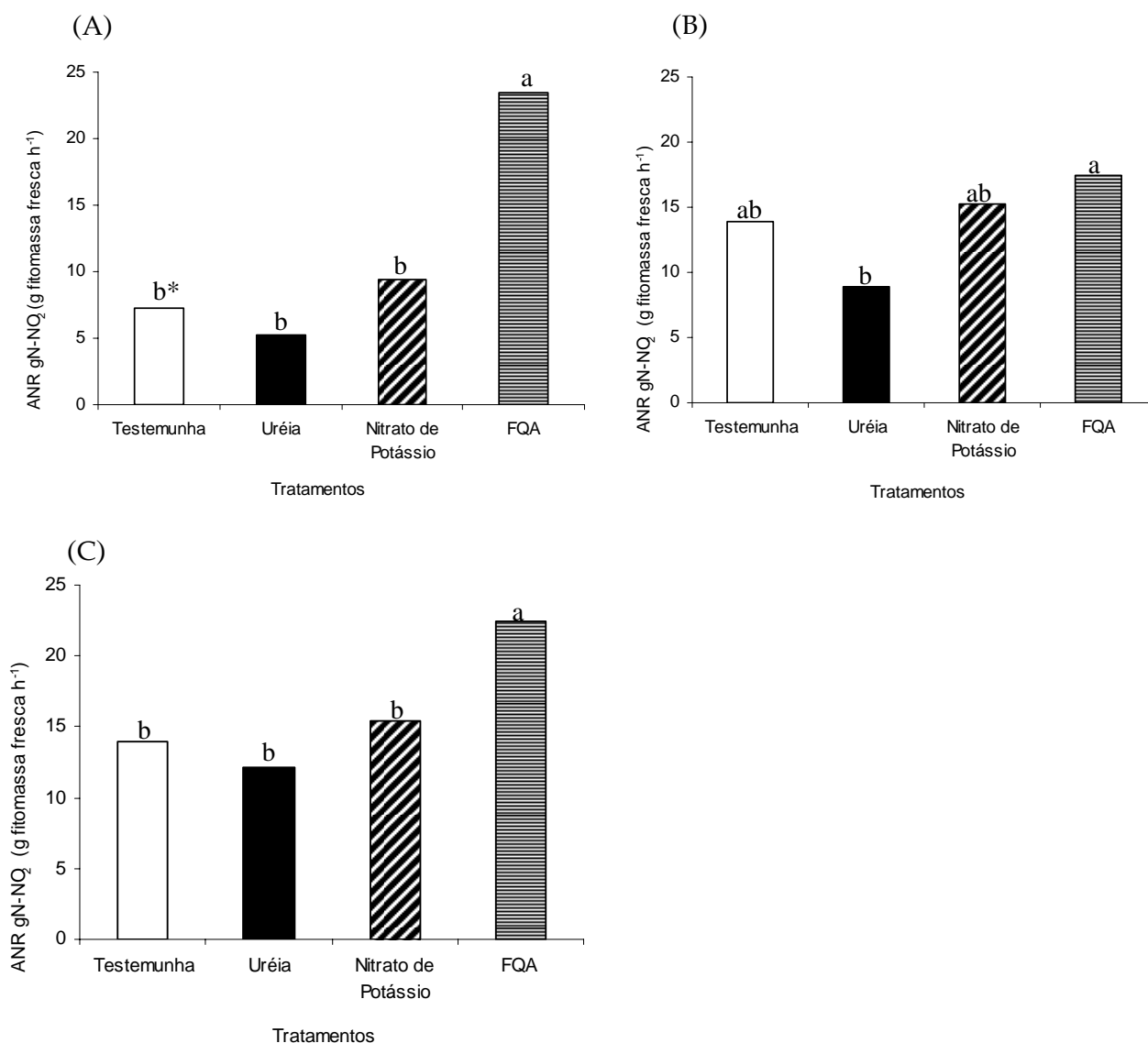


Figura 1. Atividade da enzima nitrato redutase (ANR) em plantas de Mogno aos 1° (A), 3° (B) e 8° (C) dias após a aplicação de (T₁ testemunha (sem aplicação); T₂ uréia (CO(NH₂)₂); T₃ nitrato de potássio (KNO₃); T₄ fertilizante quelatado por aminoácido (FQA) (N 5%, P₂O₅ 8%, K₂O 8%, Ca 1,0%, S 2,4%, Mg 0,5%, B 0,6%, Cu 0,2%, Mn 0,5%, Mo 0,2%, Zn 1,0%, Carbono Orgânico Total 12%)). UNIPAM, Patos de Minas, 2009.

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.