

Parâmetros cinéticos de absorção de N-NO_3^- em variedades de arroz contrastantes quanto ao teor de proteína nos grãos⁽¹⁾

Leilson Novaes Arruda⁽²⁾; Sara Brasil Carvalho⁽³⁾; Orlando Carlos Huertas Tavares⁽⁴⁾; Rafael Passos Rangel⁽⁵⁾; Carlos Alberto Bucher⁽⁶⁾; Sonia Regina de Souza⁽⁷⁾

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos do Curso de Pós-Graduação em Agronomia-Ciência do Solo (CPGA-CS), Faperj e CNPq; ⁽²⁾ Mestrando do curso de Agronomia CPGA-CS, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, CEP: 23890-000, arrudaln@hotmail.com; ⁽³⁾ Bolsista de Iniciação Científica PIBIC/CNPq/UFRuralRJ, Discente do Curso de Agronomia; ⁽⁴⁾ Doutorando do curso de Agronomia - CPGF, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; ⁽⁵⁾ Mestrando do curso de Agronomia CPGA-CS, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; ⁽⁶⁾ Professor do Departamento de Fitotecnia da UFRuralRJ, ⁽⁷⁾ Professor do Departamento de Solos da UFRuralRJ.

RESUMO: Os parâmetros cinéticos são de grande importância na caracterização de variedades em relação à eficiência na absorção de nutrientes. Nesse trabalho foram avaliados os parâmetros cinéticos ($V_{\text{máx}}$ e K_M) de absorção de nitrato e o acúmulo de massa na parte aérea e raízes de sete variedades de arroz contrastantes quanto ao teor de proteína nos grãos. As plantas foram submetidas a três tratamentos com N-NO_3^- : cultivo constante com 0,2 mM e ressuprimento com 0,2 e 2 mM após deficiência de 72h. Houve a formação de dois grupos com relação ao parâmetro K_M no tratamento sob ressuprimento com 0,2 mM de N-NO_3^- . Independente da variedade, as plantas cultivadas com 0,2 mM de N-NO_3^- constante apresentaram menores valores de massa seca de parte aérea, mas não de raízes.

Termos de indexação: *Oryza sativa*, cinética de absorção de nitrato, eficiência no uso de nitrogênio.

INTRODUÇÃO

O arroz *Oryza sativa* L. é um dos cereais de maior importância no mundo, principalmente nos países em desenvolvimento devido ao fornecimento de carboidratos e proteínas importantes na dieta alimentar da população, constituindo o alimento básico para aproximadamente 2,4 bilhões de pessoas (Cancellier et al., 2011).

Devido a sua grande importância para as plantas, bem como a sua rápida transformação e alta mobilidade no solo, o nitrogênio tem sido cada vez mais estudado com o intuito de melhorar a eficiência na sua absorção e minimizar suas perdas nos solos (Fidelis et al., 2011).

Uma boa disponibilidade de nitrogênio aumenta a área foliar, a interceptação da radiação solar e a taxa fotossintética, resultando diretamente no aumento do número de perfilhos, número de panículas, enchimento dos grãos e produtividade (Cancellier et al., 2011; Fidelis et al., 2011).

Epstein e Hagen (1952) em estudos de absorção de íons, relacionaram a cinética de Michaelis e

Menten ao transporte de íons na membrana de células vegetais. Esses autores associaram os transportadores de íons, as enzimas e os íons ao substrato, de modo que o parâmetro cinético $V_{\text{máx}}$ representa a velocidade máxima de transporte quando todos os transportadores estiverem carregados, e o K_M , a concentração de íons na qual a velocidade de absorção é a metade da máxima.

Os parâmetros cinéticos são de grande importância, seja para a seleção de novas cultivares ou para estudar o comportamento dos transportadores em relação à concentração de nutrientes disponível (MATIAS, et al. 2003).

Assim como os parâmetros cinéticos, o acúmulo de biomassa é de grande importância na caracterização de plantas em relação a eficiência na absorção de nutrientes (BAPTISTA, et al., 2000).

O objetivo deste trabalho foi determinar os parâmetros cinéticos de absorção de N-NO_3^- , assim como avaliar o acúmulo de massa da parte aérea e raízes de sete variedades de arroz contrastantes quanto ao teor de proteína nos grãos.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas da UFRRJ utilizando as variedades de arroz: Cana roxa, IAC 47, Piauí, Três meses, Mira, Caiapó e Manteiga cultivadas em câmara de crescimento, com fotoperíodo de 12h/12h (luz/escuro), radiação de aproximadamente $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (fluxo de fótons fotossintéticos), umidade relativa do ar de 70% e temperatura de $28^\circ\text{C}/24^\circ\text{C}$ (diurna/noturna).

As sementes das variedades de arroz foram desinfetadas em hipoclorito a 0,1% e germinadas em água destilada usando gaze como suporte para impedir a imersão das sementes. Cinco dias após a germinação, as plântulas foram transferidas para solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) com 1/8 de força iônica contendo 0,5 mM de N-NO_3^- e 0,1 mM de N-NH_4^+ até o sexto dia após a germinação (DAG). Entre o sexto e o nono DAG foi fornecido uma solução de 1/4 de força iônica e 2 mM de N-NO_3^- e 0,1 mM de N-NH_4^+ . No nono

DAG as plantas foram separadas em dois grupos em que 1/3 das plantas receberam uma solução de 1/2 de força iônica e 2 mM de N-NO_3^- até os 16 DAG, e após o 16 DAG receberam uma solução de 1/2 de força iônica e 0,2 mM até o 25 DAG (0,2 mM constante), o outro grupo composto por 2/3 das plantas receberam uma solução de 1/2 de força iônica e 2 mM de N-NO_3^- até os 22 DAG, a seguir as plantas passaram por um período de 72 horas sem nitrogênio (receberam solução de 1/2 de força iônica sem N) e em seguida foram divididas em dois grupos: um grupo recebeu ressuprimento com uma solução a 1/2 de força iônica e 0,2mM de N-NO_3^- (ressuprimento com 0,2 mM), outro grupo recebeu uma solução a 1/2 força iônica e 2mM de N-NO_3^- (ressuprimento com 2 mM). Todas as plantas a partir dos 15 DAG não receberam mais N-NH_4^+ . As soluções eram trocadas a cada três dias.

No 25º DAG após a troca de solução nutritiva amostras de solução foram coletadas. No tratamento de 0,2mM de N-NO_3^- , devido ao rápido decréscimo do N-NO_3^- na solução, foram feitas coletas a cada meia hora, durante as cinco primeiras horas e depois a cada hora para o grupo com. Já no tratamento com 2 mM as coletas foram feitas apenas a cada hora. As amostras de solução nutritiva foram utilizadas para a determinação de nitrato de acordo com Cataldo et al. (1975) e Miranda et al. (2001). O método proposto por Miranda et al. (2001), foi utilizado para o tratamento de 0,2mM de N-NO_3^- devido a maior sensibilidade do método para baixas concentrações, porém o mesmo não é aplicável a altas concentrações, devido a isso foi utilizado o método de Cataldo et al. (1975) para o tratamento de 2mM de N-NO_3^- . Após o término das coletas de solução nutritiva para o experimento de cinética, as plantas foram coletadas, secas em estufa e se determinou a massa de raiz e da parte aérea.

Empregou-se o processo gráfico-matemático proposto por Ruiz (1985) para calcular os valores de $V_{\text{máx}}$ e K_M , baseado no programa "Cinética" (RUIZ; FERNANDES FILHO, 1992), de acordo com o método de Claassen e Barber (1974).

Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias analisadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando-se o programa computacional Sistema para Análise de Variância - SISVAR (FERREIRA, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira hora após a troca de solução o influxo de nitrato foi irrelevante nos tratamentos de 0,2mM constante e ressuprimento. Isso se deve ao tempo que é necessário para que haja a indução dos transportadores (Santos et al. 2011). Por outro lado, no ressuprimento com 2mM, houve absorção de nitrato imediatamente após a troca de solução devido ao caráter constitutivo dos transportadores de baixa afinidade (Santos et al. 2011). Resultados semelhantes foram observados por Santos et al. (2011).

Quando submetidas ao tratamento constante de 0,2 mM, o nitrato da solução nutritiva esgotou seis horas após a troca de solução nutritiva. Já no tratamento onde houve ressuprimento com 0,2 mM, o nitrato em solução esgotou em apenas cinco horas, indicando que o período de privação de N aplicado nesse tratamento, potencializa a capacidade de absorção de nitrato pelo sistema de alta afinidade. Quando as plantas foram submetidas ao ressuprimento com 2 mM, o nitrato em solução nutritiva esgotou 30 horas após o início do experimento.

Com o tratamento constante de 0,2 mM as variedades Piauí e IAC 47 apresentaram maior massa seca de raiz (Tabela 1). O mesmo aconteceu para o ressuprimento com 0,2 mM e 2 mM. A variedade Três Meses apresentou a menor massa seca de raiz com ressuprimento de 0,2 mM e no tratamento constante 0,2 mM. As variedades Três Meses e Cana roxa não apresentaram diferenças significativas entre os três tratamentos, indicando que para essas variedades as raízes se desenvolvem de modo similar independente da concentração de nitrato na solução.

Todas as variedades apresentaram menor massa seca de parte aérea no tratamento de 0,2 mM constante quando comparado aos ressuprimentos (Tabela 2), indicando que o estresse sofrido por essas variedades durante o período de 6 dias com 0,2mM de N-NO_3^- influenciou no desenvolvimento da parte aérea dessas plantas, devido a falta mais prolongada de nitrogênio em solução nutritiva.

Analisando os parâmetros cinéticos ($V_{\text{máx}}$ e K_M) as variedades foram divididas em dois grupos: grupo 1, no qual não foi constatada diferença significativa para o parâmetro cinético K_M entre os tratamentos sob cultivo constante com 0,2mM e ressuprimento com 0,2mM de N-NO_3^- e grupo 2, no qual houve diferença significativa entre esses mesmos tratamentos, com maiores valores de K_M

para o tratamento de ressuprimento com 0,2 mM (Figura 1 e Tabela 3).

Apesar da variedade Caiapó apresentar maior $V_{m\acute{a}x}$, não foram observadas diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade nos tratamentos sob cultivo constante com 0,2 mM e ressuprimento com 0,2mM. Com 0,2 mM de $N-NO_3^-$ constante a variedade Piauí apresentou o menor K_M (Figura1). Resultados similares foram encontrados por Santos et al. (2011). Por outro lado, no ressuprimento com 0,2mM as variedades IAC 47 e Manteiga apresentaram os menores valores de K_M (Figura1).

Embora não houve diferenças significativas no tratamento de ressuprimento com 2 mM a variedade IAC 47 apresentou o maior valor de $V_{m\acute{a}x}$ e a variedade Mira foi a de menor valor de K_M (Tabela 4).

CONCLUSÕES

O estresse por baixo nível de nitrogênio causa redução na massa seca das plantas de arroz.

As variedades Piauí, IAC 47 e Manteiga são as mais eficientes na absorção de nitrato sob baixa concentração devido aos menores valores de K_M encontrados.

AGRADECIMENTOS

A Capes, a CNPQ, a FAPERJ e ao CPGA-CS pela concessão da bolsa e apoio financeiro e a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

REFERÊNCIAS

BAPTISTA, J.A.; FERNANDES, M. S.; SOUZA, S. R.. Cinética de absorção de amônio e crescimento radicular das cultivares de arroz Agulha e Bico Ganga. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v. 35, n. 7, July 2000.

BORGES, E.A.; LOSS, A.; SILVA, E.E.; SOUZA, S.R. & FERNANDES, M.S. Cinética de absorção de amônio e efluxo de prótons em variedades de milho. *Semina Ci. Agr.*, 30:513-526,2009.

CANCELLIER, E. L.; BARROS, H. B.; KISCHEL, E. ; GONZAGA, L. A. M.; BRANDÃO, D. R.; FIDELIS, R. R.; Eficiência agrônômica no uso de nitrogênio mineral por cultivares de arroz de terras altas. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.6, n.4, p.650-656, out.-dez., 2011, Recife, PE , UFRPE, Disponível em: <<http://www.redalyc.org/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=119021237015>> ISSN 1981-1160

CATALDO, D.; HARRON, M.; SCHARADER, L. E.; YOUNGS, V.L. Rapid colorimetric determination of nitrate

in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, v.6, p.853-855, 1975.

CLAASSEN, N.; BARBER, S. A. A method for characterizing the relation between nutrient concentration and flux into root of intact plants. *Plant Physiology*, Bethesda, v. 54, n. 4, p. 564-568, 1974.

EPSTEIN, E.; HAGEN, C. E. A kinetic study of the absorption of alkali cations by barley roots. *Plant Physiology*, Bethesda, v. 27, n. 3, p. 457-472, 1952.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. *Anais...São Carlos: UFSCar*, 2000. p. 255-258

FIDELIS, R. R.; ROTILI, E. A.; SANTOS, M. M; BARROS, H. B.; MELO, A. V.; DOTTO, M. Eficiência no uso de nitrogênio em cultivares de arroz irrigado. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, ISSN (on line): 1981-0997, v.6, n.4, p.622-626, out.-dez., 2011, Recife, PE, UFRPE.

HOAGLAND, D. R., ARNON, D. I., "The Water-Culture Method for Growing Plants Without Soil", *California Agr. Expt. Sta. Circ. 347* (revised), 1950.

MATIAS, G.C.S.; COMETTI, N.N. & FERNANDES, M.S. Cinética de absorção de nutrientes por alface em hidroponia-NFT - com duas concentrações da solução nutritiva. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 29., 2003, Ribeirão Preto. *Anais... Botucatu, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo*, 2003. CD ROM.

MIRANDA, K. M.; ESPEY, M. G.; WINK, D. A. A rapid simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide* 2001, 5, 62-71.

RUIZ, H. A.; FERNANDES FILHO, E. I. Cinética: software para estimar as constantes $V_{m\acute{a}x}$ e K_M da equação de Michaelis-Menten. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, n.10., 1992, Piracicaba. *Anais... Piracicaba: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo*, 1992. p. 124- 25. (Série Técnico-Científica, 180).

RUIZ, H. Estimativa dos parâmetros cinéticos K_m e $V_{m\acute{a}x}$ por uma aproximação gráfico - matemática. *Revista Ceres*, Viçosa, v.32, n. 179, p.79-84, 1985.

SANTOS, L. A., SANTOS, W. A., SPERANDIO, M. V. L., BUCHER, C. A., SOUZA, S. R., FERNANDES, M. S. (2011). Nitrate uptake kinetics and metabolic parameters in two rice varieties grown in high and low nitrate. *Journal of Plant Nutrition*, 34: 7, 988 — 1002.

Tabela 1: Massa seca de raiz (g/vaso) das variedades de arroz IAC 47, Piauí, Caiapó, Três meses, Mira, Manteiga e Cana roxa submetidas aos tratamentos: 0,2 mM ressuprimento, 0,2 mM constante e 2 mM constante, coletadas no 22° DAG.

Variedades	Massa seca de raiz					
	0,2 mM Const		0,2 mM Resu		2 mM Resu	
IAC 47	0,45 [*]	Ab	0,49	Ab	0,58	Aa
Piauí	0,41	ABb	0,45	ABab	0,51	ABa
Manteiga	0,35	Bb	0,37	BCb	0,47	BCa
Três meses	0,34	Ba	0,34	Ca	0,36	Da
Caiapó	0,33	Bb	0,38	BCab	0,42	CDa
Mira	0,35	Bb	0,38	BCb	0,48	BCa
Cana Roxa	0,33	Ba	0,38	BCa	0,40	CDa

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

Tabela 3: Parâmetros cinéticos (V_{\max} e K_M) das variedades de arroz IAC 47, Piauí, Caiapó, Três meses, Mira, Manteiga e Cana roxa submetidas aos tratamentos: 0,2 mM resuprimento e 0,2 mM constante.

Variedade	V_{\max}		K_M	
	0,2 mM const	0,2 mM resu	0,2 mM const	0,2 mM resu
IAC 47	51,60 [*]	Aa	52,58	Aa
Piauí	48,65	Aa	55,75	Aa
Manteiga	52,69	Aa	52,26	Aa
Três meses	51,95	Aa	59,95	Aa
Caiapó	59,83	Aa	60,66	Aa
Mira	57,41	Aa	57,73	Aa
Cana Roxa	53,94	Aa	58,74	Aa

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

Tabela 2: Massa seca da parte aérea (g/vaso) das variedades de arroz IAC 47, Piauí, Caiapó, Três meses, Mira, Manteiga e Cana roxa submetidas aos tratamentos: 0,2 mM resuprimento, 0,2 mM constante e 2 mM constante, coletadas no 22° DAG

Variedades	Massa seca da parte aérea					
	0,2 mM Const		0,2 mM Res		2 mM Res	
IAC 47	0,78 [*]	Ac	1,19	Ab	1,45	Aa
Piauí	0,63	Ab	1,02	ABa	1,19	Ba
Manteiga	0,61	Ac	0,84	Bb	1,09	Ba
Três meses	0,61	Ab	0,92	Ba	1,02	Ba
Caiapó	0,57	Ab	0,90	Ba	1,05	Ba
Mira	0,60	Ac	0,86	Bb	1,13	Ba
Cana Roxa	0,56	Ab	0,90	Ba	1,03	Ba

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

Tabela 4: Parâmetros cinéticos (V_{\max} e K_M) das variedades de arroz IAC 47, Piauí, Caiapó, Três meses, Mira, Manteiga e Cana roxa submetidas aos tratamentos com ressuprimento de 2 mM de N-nitrato

Variedade	2 mM Resu			
	V_{\max}		k_m	
IAC 47	110,08 [*]	a	414,19	a
Piauí	89,30	a	438,66	a
Manteiga	115,58	a	339,11	a
Três meses	113,94	a	312,55	a
Caiapó	118,98	a	497,96	a
Mira	91,62	a	303,98	a
Cana Roxa	106,13	a	379,76	a

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

Figura 1. Valores de K_M das variedades de arroz IAC 47, Piauí, Caiapó, Três meses, Mira, Manteiga e Cana roxa obtidos a partir de uma cinética de absorção de $N-NO_3^-$, submetidas aos tratamentos: 0,2 mM resuprimento e 0,2 mM constante, divididas em dois grupos: grupo 1, não houve diferença significativa e grupo 2 houve diferença significativa pelo Tukey a 5% de probabilidade para o parâmetro cinético K_M entre os dois tratamentos

