

Diferenças na absorção de N e acúmulo das frações nitrogenadas em arroz submetidas ao ressuprimento com NO_3^- ou NH_4^+ ⁽¹⁾

Marcus Vinícius Loss Sperandio ⁽²⁾; Priscilla Nascimento Moredjo ⁽³⁾; Leandro Azevedo Santos ⁽⁴⁾; Manlio Silvestre Fernandes ⁽⁵⁾ e Sonia Regina de Souza ⁽⁶⁾

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos da FAPUR, CNPq, CAPES e FAPERJ.

⁽²⁾ Estudante de doutorado em Agronomia – Ciência do Solo da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ, marcusloss@gmail.com; ⁽³⁾ Estudante de graduação em Engenharia Floresta da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ, priscilla.moredjo@gmail.com; ⁽⁴⁾ Professor Adjunto do Instituto de Agronomia, Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ, azevedo@ufrj.br; ⁽⁵⁾ Professor Emérito do Instituto de Agronomia, Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ, manlio@pq.cnpq.br; ⁽⁶⁾ Professora Associada do Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ, soniabq@ufrj.br.

RESUMO: O nitrogênio (N) é de vital importância para o cultivo vegetal, e seu fornecimento está associado a significativos ganhos de produtividade. O objetivo do trabalho foi comparar a taxa de absorção de NO_3^- e NH_4^+ em arroz e analisar o acúmulo de NO_3^- , NH_4^+ e N-amino. As plantas de arroz da variedade Nipponbare foram cultivadas em câmara de crescimento com solução de Hoagland modificada e receberam ressuprimento de N aos 18 DAG depois de três dias sem N. Um grupo permaneceu constante com 2 mM de N como controle. O ressuprimento com 2 mM de N- NO_3^- ou N- NH_4^+ aumentou a taxa de absorção de N. O ressuprimento com 2 mM de N- NO_3^- aumentou os teores de N- NH_4^+ na parte aérea e raiz. O ressuprimento com 2 mM de N- NH_4^+ resultou em altos teores de N- NH_4^+ e N-amino livre nas raízes. As diferenças no acúmulo de N- NH_4^+ e N-amino entre plantas com ressuprimento de NO_3^- ou NH_4^+ pode ser explicado pelas diferenças entre a absorção e a dinâmica de NO_3^- e NH_4^+ na planta.

Termos de indexação: *Oryza sativa*, taxa de absorção, metabolismo de N.

INTRODUÇÃO

O arroz é um dos cereais mais utilizados na alimentação humana em diversas partes do mundo, principalmente pela poluição de baixa renda. O nitrogênio (N) é um nutriente requerido em grandes quantidades pelas plantas, no entanto, sua disponibilidade é reduzida por ser facilmente perdido por lixiviação, volatilização para a atmosfera ou desnitrificação por microrganismos (Glass, 2003). Isso leva o N a estar em baixas concentrações no solo, levando a aplicações sucessivas de fertilizantes nitrogenados ano após ano (Glass, 2003). Devido ao elevado custo dos fertilizantes nitrogenados e das altas taxas de perdas de N do solo, tem-se buscado elucidar os mecanismos responsáveis

pela maior eficiência de absorção e uso do nitrogênio, seja ele disponibilizado na forma de NO_3^- ou NH_4^+ .

A absorção de NO_3^- e NH_4^+ nas células ocorre através de transportadores específicos presentes na membrana plasmática, que podem ser classificados de acordo com sua afinidade pelo substrato. Há transportadores de alta afinidade (HATS - "High Affinity Transport System") que operam sob baixas concentrações de NO_3^- (<1 mM de N). Há ainda os transportadores de baixa afinidade (LATS - "Low Affinity Transport System") que operam em concentrações acima de 1 mM (Aslam et al., 1993). Os transportadores de NO_3^- e NH_4^+ apresentam diferenças na cinética de absorção de N, podendo levar a variações na taxa de absorção de NO_3^- e NH_4^+ dependendo da espécie vegetal (Souza & Fernandes, 2006).

Desse modo, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a absorção de NO_3^- e NH_4^+ em arroz e verificar as diferenças geradas no acúmulo de NO_3^- , NH_4^+ e N-amino nos tecidos de raiz e parte aérea das plantas.

MATERIAL E MÉTODOS

O cultivo das plantas foi realizado em câmara de crescimento, com fotoperíodo de 14h/10h (luz/escuro), fluxo de fótons fotossintéticos de 250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, umidade relativa do ar de 70% e temperatura 28°C/24°C (diurna/noturna). O experimento foi montado com delineamento inteiramente casualizado em um fatorial contendo as doses de N e fonte de N usando três repetições.

Tratamentos e amostragens

Sementes de arroz (*Oryza sativa* L. cv Nipponbare) foram previamente desinfetadas em solução de hipoclorito de sódio 2% por 10 minutos e depois lavadas várias vezes com água destilada. Em seguida foram transferidas para potes contendo somente água destilada onde

uma gaze foi usada para impedir a imersão das sementes. Seis dias após a germinação (DAG), as plântulas foram transferidas para vasos com volume de 700 ml com quatro plantas por vaso, usando solução de Hoagland (Hoagland & Arnon, 1950) modificada com $\frac{1}{4}$ da força iônica total, onde um grupo recebeu 2 mM de N-NO_3^- como fonte de N e outro 2 mM de N-NH_4^+ . O pH da solução no experimento com N-NO_3^- foi 5,5 e no experimento com N-NH_4^+ 6,0. Após três dias, as plantas receberam solução de Hoagland modificada com $\frac{1}{2}$ força iônica, continuando um grupo com 2 mM de NO_3^- como fonte de N e outro com 2 mM de NH_4^+ . A partir de então, esta mesma solução foi reposta a cada três dias.

Quinze dias após a germinação, $\frac{2}{3}$ dos vasos de cada grupo receberam solução de Hoagland modificada sem nitrogênio, enquanto o restante continuou recebendo a solução de Hoagland com 2 mM de N-NO_3^- ou N-NH_4^+ . Dezoito dias após a germinação, a metade dos vasos com solução sem nitrogênio voltou a receber solução com N-NO_3^- ou N-NH_4^+ (ressuprimento), enquanto a outra metade permaneceu sem N-NO_3^- ou N-NH_4^+ por três dias (deficiência). Assim, houve três tratamentos: um grupo permaneceu constantemente com N-NO_3^- (controle), outro foi submetido a um período de deficiência de N-NO_3^- ou N-NH_4^+ por 75 horas e o último que foi submetido ao ressuprimento com 2 mM de N-NO_3^- ou com N-NH_4^+ após 72 horas de deficiência.

Seis horas após a aplicação dos tratamentos, as plantas foram separadas em raiz e parte aérea e armazenadas em etanol 80%. Após a partição com clorofórmio, a fração solúvel obtida foi utilizada para a determinação dos teores de N-amino livre (Yemm & Cocking, 1955), N-NH_4^+ (Felker, 1977) e N-NO_3^- (Cataldo et al., 1975). Ainda foram determinados os teores de NO_3^- (Cataldo et al., 1975) e NH_4^+ (Felker, 1977) na solução nutritiva.

Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância usando o software SISVAR (Ferreira, 2011). Para análise dos dados foi usada a análise de variância e aplicado o teste Tukey a 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observada maior taxa de absorção de NO_3^- e NH_4^+ nas plantas submetidas ao ressuprimento desses nutrientes após um período de 72 horas sem N na solução nutritiva (**Figura 1**). A taxa de absorção de NH_4^+ foi maior que a taxa de absorção de NO_3^- com suprimento constante e ressuprimento de ambas as formas de N.

No experimento com NO_3^- , houve maiores teores de N-NH_4^+ nas raízes das plantas submetidas ao ressuprimento (**Figura 2a**), indicando redução do NO_3^- nesse tecido. O mesmo foi observado para a parte aérea, uma vez que parte do NO_3^- pode ser enviado para a parte aérea para posterior redução e assimilação (Souza & Fernandes, 2006). Os níveis de NO_3^- nas plantas submetidas ao período de três dias de deficiência são inferiores aos teores de N-NO_3^- das plantas com suprimento constante (**Figura 2c**). Santos et al (2009) mostraram que plantas de arroz cultivadas durante 30 dias sob 2 mM de N-NO_3^- apresentaram intensa remobilização do NO_3^- acumulado nos vacúolos das folhas depois da retirada do NO_3^- da solução nutritiva, apresentando uma redução de 73,4% após 72h

No experimento com NH_4^+ , as plantas submetidas ao ressuprimento deste nutriente apresentaram aumento de, aproximadamente, 12 vezes nos teores de N-NH_4^+ nas raízes em relação às plantas com suprimento constante de NH_4^+ , enquanto que na parte aérea o aumento foi de apenas 1,5 vezes (**Figura 2d**). Houve também maior teor de N-amino livre nas raízes em relação à parte aérea (**Figura 2e**), demonstrando serem as raízes o local preferencial para assimilação do N-NH_4^+ em arroz (Souza & Fernandes, 2006).

Comparativamente, os níveis de N-amino livre sofreram maiores reduções no experimento com deficiência de NH_4^+ (**Figura 2e**) do que no experimento com deficiência de NO_3^- (**Figura 2b**), e isso pode ser decorrente da remobilização do NO_3^- no experimento com este nutriente (Sondergaard et al., 2004). O teor de N-NO_3^- na parte aérea foi igual entre o ressuprimento de NO_3^- e deficiência desse nutriente (**Figura 2c**), enquanto que os teores de N-NH_4^+ aumentaram com o ressuprimento (**Figura 2a**), indicando que provavelmente todo o NO_3^- na parte aérea está sendo assimilado.

O maior teor de N-amino livre nas plantas que sofreram ressuprimento de NH_4^+ comparado com as plantas com ressuprimento de NO_3^- pode ser explicado pela maior taxa de absorção de NH_4^+ em relação ao NO_3^- (**Figura 1**). Adicionalmente, o NH_4^+ necessita ser rapidamente assimilado pelas enzimas do ciclo GS-GOGAT por ser tóxico, gerando altos teores de N-amino (Britto et al., 2001). A alta taxa de influxo de NH_4^+ pode ser verificado com o alto teor de N-NH_4^+ nas raízes das plantas que sofreram ressuprimento com 2 mM de N-NH_4^+ (**Figura 2d**). O NO_3^- , por outro lado, pode ser acumulado no vacúolo e ser assimilado posteriormente (Souza et al., 1998), mantendo baixos níveis de N-amino (**Figura 2b**).

As plantas com suprimento constante de NH_4^+ apresentaram menores teores de N-NH_4^+ e N-amino livre nas raízes, podendo ser explicado

pela adaptação da absorção de NH_4^+ durante o cultivo das plantas (Britto et al., 2001).

CONCLUSÕES

O ressuprimento de NH_4^+ possui maior taxa de absorção de N e gera altos níveis de N- NH_4^+ e N-amino nas raízes de arroz.

O ressuprimento de NO_3^- não altera os níveis de N-amino por ter menor taxa de absorção, além de ser acumulado ou enviado para a parte aérea.

AGRADECIMENTOS

Ao Curso de Pós-graduação em Ciência do Solo da UFRRJ e ao CNPq, FAPERJ e CAPES pelo fomento.

REFERÊNCIAS

ASLAM, M.; TRAVIS, R. L.; HUFFAKER, R. C. Comparative induction of nitrate and nitrite uptake and reduction systems by ambient nitrate and nitrite in intact roots of barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings. *Plant Physiology*, 102:811-819, 1993.

BRITTO, D. T.; SIDDIQI, M. Y.; GLASS, A. D. M.; et al. Futile transmembrane NH_4^+ cycling: A cellular hypothesis to explain ammonium toxicity in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98:4255-4258, 2001.

CATALDO, D.; HARRON, M.; SCHARADER, L. E. et al. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, New York, US., 6:853-855, 1975.

FELKER, P. Micro determination of nitrogen in seed protein extracts. *Analytical Chemistry*, 49:1980, 1977.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia (UFLA)*, v.35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

GLASS, A. D. M. Nitrogen use efficiency of crop plants: physiological constraints upon nitrogen absorption. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22:453-470, 2003.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. *California Agricultural of Experimental Station Bulletin*, 347:1-32, 1950.

SANTOS, L. A., BUCHER, C. A., SOUZA, S. R., et al. Effects of nitrogen stress on proton-pumping and nitrogen metabolism in rice. *Journal of Plant Nutrition*, 32:549-564, 2009.

SONDERGAARD, T. E.; SCHULZ, A.; PALMGREN, M. G. Energization of transport processes in plants. Roles of the plasma membrane H^+ -ATPase. *Plant Physiology*, 136:2475-2482, 2004.

SOUZA, S. R.; FERNANDES, M. S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M. S. *Nutrição Mineral de Plantas*. Ed. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, 2006. 432p.

SOUZA, S. R.; STARK, E. M. L. M.; FERNANDES, M. S. Nitrogen remobilization during the reproductive period in two brazilian rice varieties. *Journal of Plant Nutrition*, 21:2049-2063, 1998.

YEMM, E. W. & COCKING, E. C. The determination of amino-acid with ninhydrin. *Analytical Biochemistry*, 80:209-213, 1955.

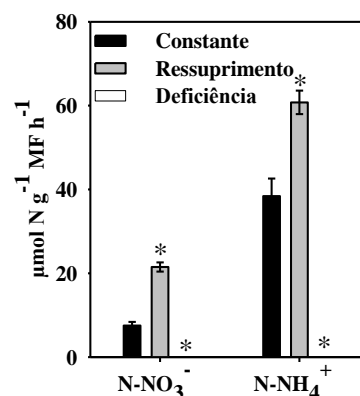


Figura 1 – Taxa de absorção de N-NO_3^- e N-NH_4^+ da solução nutritiva em plantas de arroz da variedade Nipponbare três horas após o início dos tratamentos, em experimentos com NO_3^- ou NH_4^+ , com suprimento constante de NO_3^- ou NH_4^+ , ressuprimento de NO_3^- ou NH_4^+ ou deficiência por 75 horas de NO_3^- ou NH_4^+ . Os tratamentos com ressuprimento e deficiência de N sob asterisco diferem significativamente do tratamento controle com suprimento constante de N-NO_3^- ou N-NH_4^+ (Teste de Tukey, $p < 0,05$). As barras representam média \pm SE (erro padrão) de três repetições.

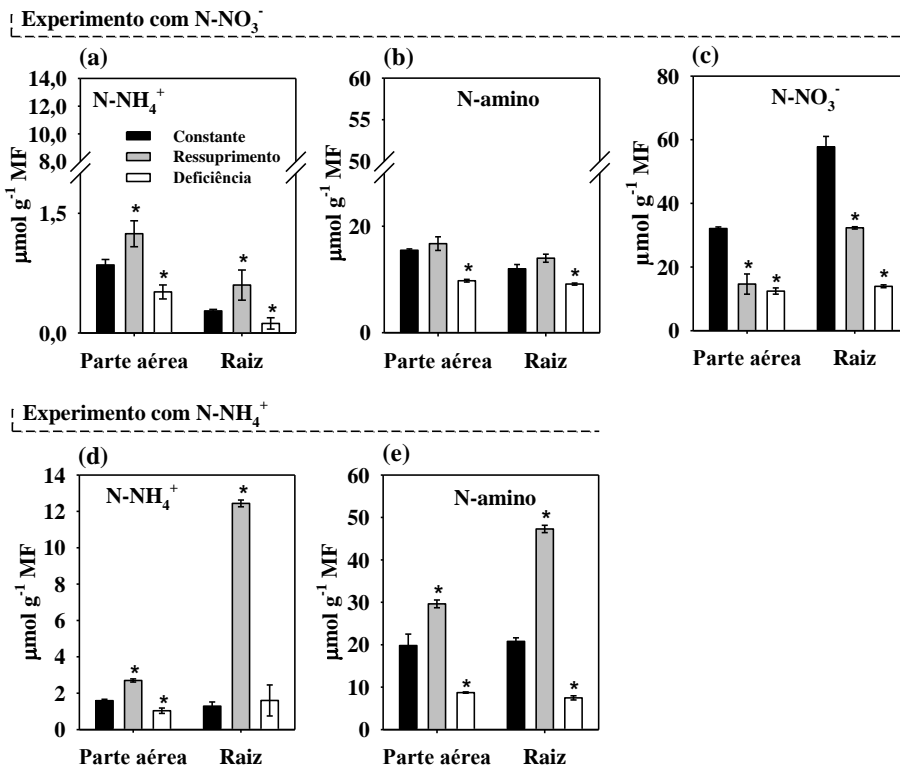


Figura 2 – Teores de N-NH_4^+ (a e d), N-amino livre (b e e) e N-NO_3^- (c) (as plantas cultivadas com N-NH_4^+ não apresentaram N-NO_3^- em tecido) nas plantas de arroz da variedade Nipponbare cultivadas com NO_3^- (a, b e c) ou NH_4^+ (d e e) sob suprimento constante de NO_3^- ou NH_4^+ , ressuprimento de NO_3^- ou NH_4^+ ou deficiência por 75 horas de NO_3^- ou NH_4^+ . Os tratamentos com ressuprimento e deficiência de N sob asterisco diferem significativamente do tratamento controle com suprimento constante de N-NO_3^- ou N-NH_4^+ (Teste de Tukey, $p < 0,05$). As barras representam média \pm SE (erro padrão) de três repetições.