



ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE CULTIVARES DE TRIGO EM RESPOSTA A DOSES DE NITROGENIO ⁽¹⁾.

Jana Daisy Honorato Borgo⁽²⁾; Daniel Ramos Pontoni⁽²⁾; Milton Ferreira de Moraes⁽⁴⁾; Volnei Pauletti⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos da CAPES, extraído do trabalho de tese do primeiro autor.

⁽²⁾ Doutorandos do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo da UFPR. Rua dos Funcionários, 1540 – Curitiba – PR – CEP 80035-050. drpontoni@gmail.com; janadaisyborgo@gmail.com; ⁽⁴⁾ Prof. Adjunto do Dep. de Solos e Eng. Agrícola da UFPR. Rua dos Funcionários, 1540 – Curitiba – PR – CEP 80035-050. moraesmf@yahoo.com

RESUMO: O entendimento enzimático de uma cultivar pode indicar plantas de maior potencial produtivo de grãos ou de biomassa. Este estudo foi desenvolvido para avaliar o efeito de doses (25, 40, 55, 70, 85, 100 e 150 mg/dm³ de N) na atividade enzimática e pigmentos clorofilianos de duas cultivares de características contrastantes. O arranjo fatorial 2x7 (duas cultivares e sete doses de N) com 14 tratamentos e 3 repetições foi montado em casa de vegetação. Foram avaliados a atividade enzimática no florescimento das cultivares (nitrato redutase e urease) clorofila, produtividade de grãos, afilhamento em 3 estádios, e produção de biomassa. A cultivar Quartzo apresentou maior atividade enzimática de nitrato redutase, urease, clorofila e produtividade de grãos com as maiores doses. A análise de componentes principais confirma a relação da Quartzo com estes componentes. A cultivar de maior rendimento de grãos apresentou comportamento estreito com a atividade enzimática e pigmentos clorofilianos.

Termos de indexação: Rendimento de grãos; urease, nitrato redutase.

INTRODUÇÃO

O trigo é o cereal que ocupa a segunda posição em produção no mundo (MAPA, 2011) e encontra-se em um cenário global com duas frentes divergentes: aumento de demanda para produção de alimentos (Cakmak, 2002) e a tendência de redução da qualidade nutricional dos grãos de trigo em micronutrientes, correlacionado com a deficiência dos elementos nos solos e melhoramento genético voltado para ganhos em produtividade (Sanghvi, 1996; Cakmak, 2002; Welch et al., 2008).

Para tanto, o entendimento enzimático pela absorção de N, pode indicar plantas de maior potencial produtivo para grãos ou de biomassa aérea e compreender como a, a atividade enzimática de

nitrato redutase (NR) e urease são de fundamentais importância para a incorporação do N nas formas orgânicas.

A atividade enzimática da nitrato redutase inicia-se após a absorção pelas raízes. A maior parte do N é absorvida pelas plantas na forma de nitrato, que, ao ser absorvido pelas raízes, pode ser translocado para a parte aérea, onde será reduzido ou armazenado nos vacúolos foliares (TAIZ & ZEIGER, 2004). A redução de nitrato e envolve a ação da enzima nitrato redutase, produzindo nitrito, nas raízes ou em cloroplastos em folhas, sendo reduzido à amônia por ação da enzima nitrito redutase.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de doses de nitrogênio na atividade da enzima redutase do nitrato, urease e clorofila em duas cultivares de trigo contrastantes.

MATERIAL E MÉTODOS

Duas cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.), cultivares Quartzo e Parrudo, desenvolvidas por diferentes instituições e empresas, disponibilizadas para cultivo no período de outubro de 2014 a fevereiro de 2015, foram avaliadas. As cultivares foram selecionadas conforme o desempenho agrônomico e o potencial para biofortificação (Giovani Benin et al. 2014).

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Solos, localizado no SCA, da UFPR, em Curitiba (PR). O solo utilizado foi seco ao ar, peneirados em peneira 4 mm e acondicionados em vasos de 3 dm³ que constituíram as unidades experimentais. O delineamento experimental consiste de arranjo fatorial 2x7, sendo 7 doses e 2 cultivares, totalizando 14 tratamentos e 3 repetições. Uma curva de calibração para N foi montada para as doses 25, 40, 55, 70, 85, 100 e 150 mg/dm³.

Na ocasião da adubação em todos os vasos, no dia 15 de outubro de 2014, cada vaso recebeu, 200 mg/dm³ de P (Ca(H₂PO₄)₂); 150 mg/dm³ de K (KH₂PO₄); 50 mg/dm³ de S (K₂SO₄) e 1 mg/dm³ de B (H₃BO₃); 0,1 mg/dm³ de Co (CoSO₄.7H₂O); 1 mg/dm³ para Cu (CuSO₄.7H₂O); 5 mg/dm³ de Cl (KCl); 5 mg/dm³ de Mn (MnSO₄.H₂O); 5 mg/dm³ de Zn (ZnSO₄.7H₂O); 0,1 mg/dm³ de Se (NaSeO₄); 0,25



mg/dm⁻³ de Mo (NH₄Mo₇O₂₄·4H₂O)(19) e 0,25 mg/dm⁻³ de Ni (NiSO₄·6H₂O), conforme recomendação de adubação para vaso.

Foram semeadas 10 sementes por vaso, no dia 22 de outubro de 2014 e 15 dias após a emergência (DAE) realizou-se o raleio permanecendo 4 plantas por vaso. As regas ocorreram diariamente com água deionizada. Conforme o desenvolvimento, as plantas foram tutoradas. Todas as folhas senescentes foram coletadas para posteriores avaliações nutricionais.

As características do solo a ser utilizado foi um Latossolo Vermelho Amarelo distrófico, de textura média-arenosa (85%). Foi realizada correção da acidez e adubação conforme a necessidade para cultura do trigo, exceto N, cujos tratamentos são apresentados abaixo. O solo foi colocado em vasos com capacidade para 3 dm³.

O solo utilizado nos vasos apresentava as seguintes características químicas: pH em CaCl₂ de 4,1; 4,8 cmol_c dm⁻³ de H+Al (em SMP); 0,82 cmol_c dm⁻³ de Al³⁺ (em KCl); 0,6 cmol_c dm⁻³ de Ca²⁺; 0,5 cmol_c dm⁻³ de Mg²⁺; <0,07 cmol_c dm⁻³ de K⁺; 6 mg dm⁻³ de P (em resina); 15 g dm⁻³ de matéria orgânica; saturação por bases de 20%. O pH do solo foi corrigido com carbonato de cálcio e carbonato de magnésio na proporção de 3:1 com (750 g de CaCO₃ + 250 g de MgCO₃), tendo-se buscado um valor de saturação de bases para 60%, conforme recomendação para trigo.

As plantas de trigo foram cultivadas até a maturidade fisiológica de grãos e após este período foram colhidas. Ao longo do desenvolvimento da cultura, foram determinados: o afilhamento com a contagem do número de afilhos por planta.

Para avaliar a produção de matéria seca da biomassa aérea foi coletado material de 4 plantas por vaso ao final do ciclo da cultura e o material foi seco em estufa de circulação fechada a 60° C até peso constante. Em seguida, foi determinada a matéria seca total da parte aérea (biomassa aérea).

A produtividade de grãos foi medida com a colheita dos grãos, descontando-se a umidade.

Medições indiretas do teor de clorofila foram realizadas com um medidor eletrônico portátil de intensidade da cor verde das plantas (SPAD), modelo Digital SPAD 502. A leitura foi efetuada em todas as folhas bandeira das plantas e depois foi efetuada a média.

No início do florescimento foi coletada uma folha abaixo da folha bandeira para a quantificação das enzimas urease e nitrato redutase (NR).

Para a determinação da nitrato redutase foi utilizada 0,2 g de massa fresca vegetal em fatias de 1 mm de largura e seguida a metodologia de Hewitt & Smith (1975) e Mulder et al. (1959). Para a determinação da enzima urease a metodologia empregada foi a adaptada de Hogan et al. (1983) e McCullough (1967).

Os dados foram testados quanto à homogeneidade das variâncias pelo teste de Bartlett, e quando homogêneas, foram submetidas a análise de variância pelo teste F (ANOVA). Na sequência, teste de comparação de médias (Tukey 5%) e análise multivariada para avaliar a correlação entre as variáveis respostas. Os dados foram analisados por meio do software Assistat e pelo software Canoco versão 4.5 (Ter Braak & Smilauer, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade da enzima urease variou de 43,4 a 65,8 µmol de N-NH₄⁺ g MF⁻¹ h⁻¹ na cultivar Quartzo. Na cultivar Parrudo a urease variou de 35,7 a 40 µmol de N-NH₄⁺ g MF⁻¹ h⁻¹.

A atividade da enzima nitrato redutase variou de 4,7 a 11,4 µmol de N-NO₂⁻ g MF⁻¹ h⁻¹ na cultivar Quartzo. Na cultivar Parrudo a NR variou de 5,1 a 7,7 µmol de N-NO₂⁻ g MF⁻¹ h⁻¹. O aumento da atividade enzimática das duas enzimas pode estar relacionado a absorção e assimilação de formas nítricas disponíveis no solo, como consequência do maior desenvolvimento radicular.

O conteúdo de clorofila aumentou significativamente nas duas cultivares e variou de 11,4 a 44,7 mg cm⁻² para a cultivar Quartzo e de 11 a 27,7 mg cm⁻² na cultivar Parrudo.

Entre cultivares, houve diferença estatística para as enzimas nitrato redutase e a urease o que indica que as duas cultivares se comportam de maneira diferente quanto a assimilação de N (Tabela 1). A cultivar Quartzo apresentou maior atividade da enzima NR do que a Parrudo o que pode indicar uma maior absorção de nitrato pela Quartzo.

Em relação ao aumento de doses a NR e urease apresentaram aumento altamente significativo.

A cultivar quartzo apresentou quantidade superior de pigmentos clorofilianos a partir da dose 40.

A análise de componentes principais (ACP) com os componentes de rendimento demonstrou que os dois primeiros componentes principais explicaram 78,3 % da variabilidade dos dados (CP1 = 52,9% e CP2 = 25,4%) (Figura 1). O segundo eixo da componente principal mostrou um agrupamento das amostras da cultivar Parrudo nos quadrantes superiores (destaque em vermelho) e as amostras da cultivar Quartzo nos quadrantes inferiores (destaque em azul).

Com base na análise multivariada (ACP), o cultivar Quartzo relacionou-se com maiores produtividades de grãos, com as maiores doses de N, e com a RN e a clorofila.

Para correlação com urease, as doses intermediária da Quartzo apresentaram a maior relação.

Para a cultivar Parrudo, o componente que mais se correlacionou foi afilhamento, apresentando pouca



relação com as enzimas e clorofila. Estes dados confirmam os resultados anteriores do teste de tukey.

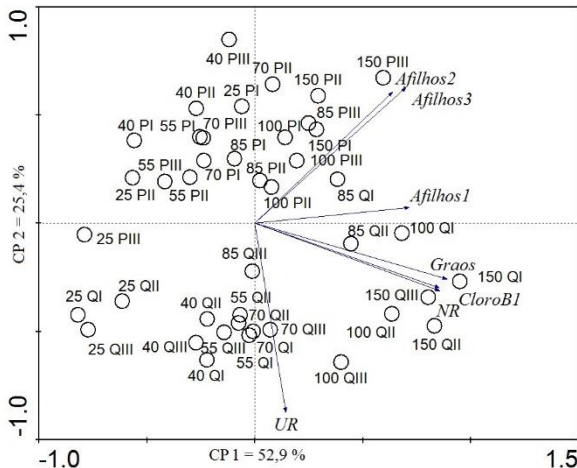


Figura 1. Análise de componentes principais (ACP) usando como variáveis de resposta (dependentes) os dados de atividade enzimática. CP: componente principal; 25, 40, 55, 70, 85, 100 e 150 = doses de N; Q = cultivar Quartzo; P = cultivar Parrudo; I, II e III = repetições.

CONCLUSÕES

O aumento das doses influenciou no aumento da atividade enzimática de NR e urease e de pigmentos clorofilianos;

A cultivar Quartzo apresentou a maior atividade enzimática de NR, urease, clorofila com as maiores doses.

Houve maior correlação da ACP entre atividade enzimática de NR, clorofila, maiores doses e maior produtividade de grãos na cultivar Quartzo.

A cultivar de maior rendimento de grãos apresentou comportamento estreito com a atividade enzimática e pigmentos clorofilianos.

REFERÊNCIAS

ASSISTAT 7.5 beta 2010. Disponível em: <<http://www.assistat.com/index.html>>. Acesso em 09 mar. 2015.

CAKMAK, I. Plant nutrition research: Priorities to meet human needs for food in sustainable ways. *Plant Soil*, 247:3-24, 2002.

HEWITT, E.J. & SMITH, T.A. *Plant mineral nutrition*. Londres, The English Universities Press, 1975. 298p

HOGAN, M.E.; SWIFT, I.E. & DONE, J. Urease assay and ammonia release from leaf tissues. *Phytochemistry*, 22(3):663-667, 1983.

McCULLOUGH, H. Determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clinica Chimica Acta*, 17(2):297-304, 1967.

MULDER, E.G.; BOXMA, R. & VEEN, W.L.V. The effect of molybdenum and nitrogen deficiencies on nitrate reduction in plant tissues. *Plant and Soil*, 10:335-355, 1959.

SANGHVI, T. G. Economic Rationale for Investing in Micronutrient Programs. A Policy Brief Based on New Analyses. Office of Nutrition, Bureau for Research and Development, United States Agency for International Development, Washington, DC. 1996.

WELCH, R.M. B.J. Linkages Between Trace Elements in Food Crops and Human Health. IN: Alloway (ed.), *Micronutrient Deficiencies in Global Crop Production*, 287, Springer Science + Business Media B.V. 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p

TER BRAAK, C.J.F. & ŠMILAUER, P. *CANOCO reference manual and user's guide to canoco for windows*. Software for canonical community ordination (version 4). Ithaca, MicroComputer Power, 1998. 352p.

Tabela 1. Influência de doses de N na nitrato redutase, urease e clorofila de duas cultivares de trigo.

Cultivar	Doses de N						
	25	40	55	70	85	100	150
Nitrato Redutase							
Quartzo	4,7 bE	6,2 aDE	7,6 aCD	8,1 aBC	9,0 aBC	9,6 aB	11,4 aA
Parrudo	6,2 aABC	5,1 bC	5,7 bBC	6,2 bABC	7,2 bAB	7,3 bAB	7,7 bA
Urease							
Quartzo	54,7 aB	65,8 aA	55,7 aB	59,6 aAB	43,4 aC	57,3 aAB	54,2 bA
Parrudo	35,7 bA	36,5 bA	38,6 bA	38,0 bA	39,6 aA	38,8 bA	40,0 bA
Clorofila 1ª Bandeira							
Quartzo	11,4 aC	19,6 aBC	25,3 aB	21,7 aBC	24,8 aB	42,5 aA	45,7 aA
Parrudo	11,0 aB	12,3 aB	15,7 bAB	15,8 aAB	23,0 aAB	26,5 bA	27,7 bA

Teores médios de três repetições. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na horizontal (entre tratamentos da mesma cultivar) e minúscula na vertical (entre cultivares).