

VARIAÇÃO DA ATIVIDADE DA NITRATO REDUTASE NAS DIFERENTES PARTES DA ALFACE CULTIVADA EM HIDROPONIA –SISTEMA NFT.

INTRODUÇÃO

O cultivo hidropônico de alface tem crescido muito no Estado do Rio de Janeiro. Concomitante, as pesquisas tem tentado acompanhá-lo a fim de estudar problemas relacionados com várias áreas, dentre elas, a Nutrição Mineral de Plantas. Nesta área, a nutrição nitrogenada tem sido o "carro-chefe" das pesquisas em hidroponia na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Nos estudos com nutrição nitrogenada, dentre os vários parâmetros analisados, a Atividade da Nitrato Redutase (ANR) tem se destacado, principalmente em experimentos que envolvam absorção e metabolismo de nitrato e amônio, por se tratar de um indicador de fluxo de NO_3^- através do citoplasma celular e auxiliar na avaliação do "pool" metabólico.

Alguns trabalhos tem mostrado diferenças na ANR entre partes da planta, destacando, normalmente, parte aérea e sistema radicular (Li e Oaks, 1993). Há registros também de diferenças entre ANR de bainhas e folhas de *Brachiaria* sp (Fernandes et al., 1978). Em nível celular, Rufty et al. (1986), demonstraram haver uma compartimentalização da Nitrato Redutase em raízes, cujas células epidérmicas concentram a maioria da ANR, enquanto as células do córtex e da endoderme praticamente não possuem ANR.

O objetivo deste trabalho é detectar as diferenças na atividade da nitrato redutase nas diferentes partes da alface a fim de determinar as posições adequadas para futuras amostragens do tecido.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação com alface do tipo "crespa" da cultivar "Vera". Foi utilizado um tratamento único, em solução nutritiva, com três repetições. Cada repetição foi composta de dois canais de cultivo hidropônico em NFT (10 plantas por canal), um reservatório (capacidade de 30 L) e uma bomba de 32 W para recirculação da solução nutritiva. Doze dias após o semeio (DAP) em espuma fenólica, as plântulas foram transferidas para canais, recebendo a solução de Furlani (1998), à metade da força iônica. Aos 45 DAP, as plantas adultas coletadas, pesadas e separadas em 9 partes para as análises de atividade da nitrato redutase (ANR):

- limbo folha nova (limbo foliar da 3^a folha do ápice para a base);
- limbo folha média (limbo foliar da 11^a folha);
- limbo folha velha (limbo foliar da 17^a folha);
- nervura folha nova (nervura principal da 3^a folha);
- nervura folha média (nervura principal da 11^a folha);
- nervura folha velha (nervura principal da 17^a folha);
- caule externo (parte mais externa - profundidade menor do que 2 mm - do caule);
- caule interno (parte mais interna - profundidade maior do que 2 mm - do caule);
- raiz (terço mediano do sistema radicular).

A massa fresca média das plantas foi de 320 g por planta. A determinação da atividade da nitrato redutase foi adaptada de Ferrari et. al. (1973). O material "picado" em tamanho de partículas em torno de 2,0 mm foi homogeneizado para a retirada de uma porção de 0,2 g de tecido fresco. O material foi incubado em solução tampão de fosfato de potássio a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com pH 7,5 contendo $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de KNO_3 e 1% (v/v) de n-propanol, numa temperatura de 30° C em banho-maria. Após o tempo de incubação, foi retirada uma alíquota de 0,4 mL para a análise de nitrito. A coloração foi obtida por adição de 0,3 mL de sulfanilamida a 1% (p/v) em HCl a 3 mol L^{-1} e 0,3 mL de N-(1-naftil)-etilenodiamino dihidroclórico a 0,02% (p/v), e a absorbância foi determinada a 540 nm para conversão a nitrito através da curva padrão.

Inicialmente, foi realizado um teste para avaliar o tempo de incubação, variando de 30 a 60 minutos (Figura 2). Para as comparações entre as partes da planta, foram utilizados 45 minutos de incubação.

Os dados de ANR foram transformados por $V(x)$ para fins de análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.



Figura 1. Foto do sistema hidropônico NFT.

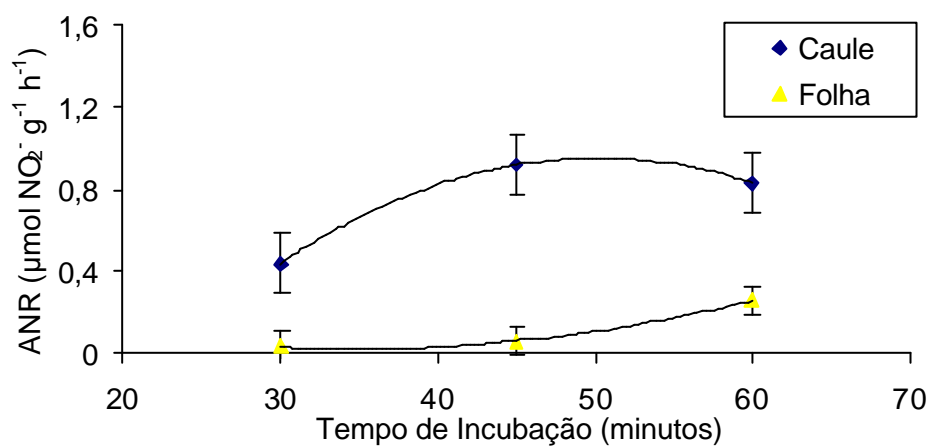


Figura 2. Teste de tempo de incubação para determinação da atividade da nitrato redutase (ANR). As barras indicam desvio padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos são mostrados na Figura 3. Em geral, os valores de atividade da nitrato redutase estiveram abaixo de $1 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ em todas as partes da alface, alcançando o máximo no limbo da folha nova, $0,89 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$, e o mínimo na parte interna do caule, $0,033 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$. Valores de ANR abaixo de $1 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ foram encontrados em *Brachiaria sp.* cultivada em solução nutritiva por Fernandes et al. (1978), tanto para folhas

quanto para bainhas. No entanto, para outras culturas, valores maiores do que $1 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ podem ser encontrados, como por exemplo, *Paspalum notatum* cultivado em solo (Bendix et al., 1982). Em cultura axênica, células de tabaco podem atingir níveis bastante elevados, em torno de $8 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ (Li e Oaks, 1993).

Pelos dados mostrados na Figura 3, pode-se notar uma diferença significativa na ANR entre os tecidos mais jovens, limbo da folha nova e parte externa do caule, e os tecidos mais velhos, de todas as outras partes, com exceção do tecido da nervura central da folha nova, também considerado tecido jovem. Esses resultados mostram que a ANR é mais elevada em regiões de intensa atividade metabólica, e que, de uma certa forma, também apresentam maior fluxo de nitrato através do citoplasma das células, onde situa-se o "pool" metabólico de NO_3^- , que, conseqüentemente induz à ANR (Ferrari et al., 1973).

A ANR da parte externa do caule foi bem maior do que a parte interna, mostrando que há maior indução de ANR nas células superficiais, e provavelmente, compartimentalização do complexo enzimático de redução do nitrato. Evidências de compartimentalização da nitrato redutase em diferentes células tanto em raízes como em folhas foram observadas em milho (Rufty et al. 1986), mostrando que a ANR nas células da epiderme e do córtex radicular possuem atividade bem mais elevada do que as células endodérmicas e xilemáticas. A compartimentalização da nitrato redutase é mais evidente quando se observa que na nervura da folha nova a ANR foi significativamente baixa, apesar do inevitável fluxo de nitrato em direção ao limbo foliar.

O presente trabalho mostra a importância da amostragem para a determinação da ANR na alface, pois regiões próximas podem conter atividades bem diferentes. Neste caso, aplicam-se os dois exemplos: a diferença significativa na ANR entre a parte externa e interna do caule, e entre o limbo e a nervura da folha nova. Recomenda-se, portanto, novos trabalhos, precisando a altura de amostragem no caule, em relação à proximidade com o ápice da planta, e as diferenças nos vários estádios de desenvolvimento da planta, como forma de proporcionar comparabilidade entre plantas sob diferentes tratamentos.

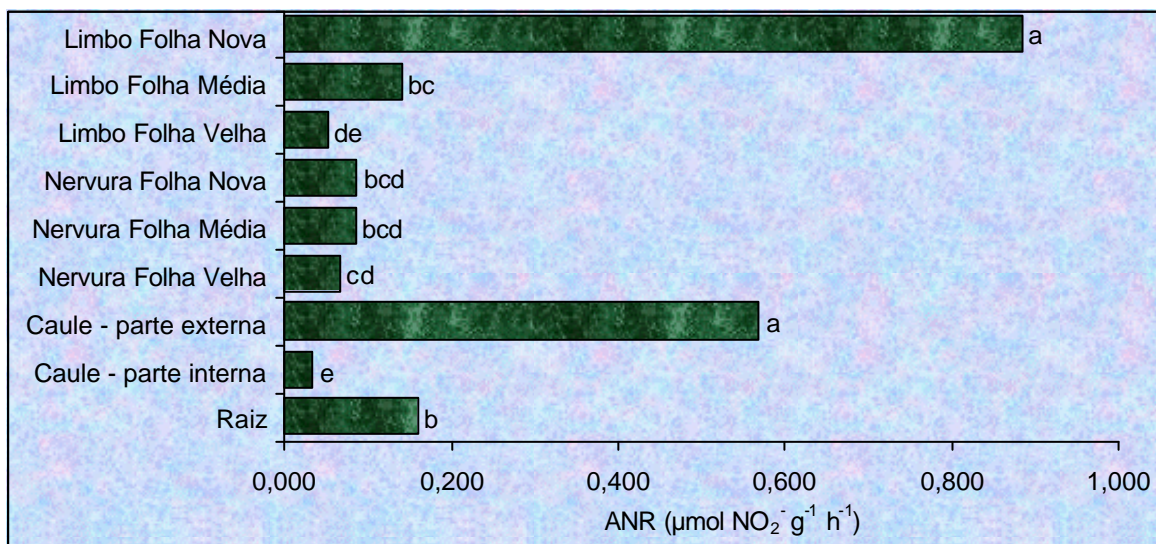


Figura 3. Variação da atividade da nitrato redutase (ANR) nas várias partes da alface em cultivo hidropônico. Letras iguais não diferem ao nível de $P = 5\%$.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENDIX, M.E.S.; FERNANDES, M.S.; ROSSIELLO, R.O.P. Aspectos de la nutrición nitrogenada de *Paspalum notatum* Flüge, en respuesta a fuentes de nitrogeno e inhibicion de nitrificacion. **Turrialba**, 32(1): 33-41, 1982.
- FERNANDES, M.S.; FERREIRA, M.B.; FREIRE, L.R. Efeitos da interação de N-NO_3^- e NH_4^+ na atividade da nitrato redutase e acumulação de N-protéico em *Brachiaria* sp. **Turrialba**, 28(3): 187-91, 1978.
- FERRARI, T.E.; YODER, O.C.; FILNER, P. Anaerobic nitrite production by plant cells and tissues: evidence for two nitrate pools. **Plant Physiol.**, 51: 423-31, 1973.
- LI, X.Z.; OAKS, A. Induction and turnover of nitrate reductase in *Zea mays*. **Plant Physiol.** 102: 1251-7, 1993.
- RUFTY, T.W.; THOMAS, J.F.; REMMLER, J.L., CAMPBELL, W.H.; VOLK, R.J. Intercellular localization of Nitrate reductase in roots. **Plant Physiol.**, 82:675-80, 1986.