

Efeito do nitrogênio amoniacal na atividade da nitrato redutase e no acúmulo de N-protéico na alface em cultivo hidropônico - sistema NFT.⁽¹⁾

Nilton Nélio COMETTI^(2,3), Gean Carlos Silva MATIAS^(2,4), Manlio Silvestre FERNANDES^(2,5)

⁽¹⁾ Apoio do CPGA-CS/UFRRJ. ⁽²⁾ Dp^{to}. de Solos, Instituto de Agronomia, UFRRJ, BR 465, km 07, 23850-000, Seropédica, RJ. Email: ncometti@ufrj.br ⁽³⁾ Doutorando do CPGA-CS/UFRRJ. ⁽⁴⁾ Bolsista do PIBIC, ⁽⁵⁾ Bolsista do CNPq.

INTRODUÇÃO.

As pesquisas com nutrição mineral da alface cultivada em hidroponia tem crescido muito nos últimos cinco anos. Um dos aspectos estudados é a nutrição nitrogenada, pela sua capital importância para a produção da massa vegetal. Também existe preocupação quanto à qualidade, principalmente o acúmulo excessivo de nitrato nos tecidos, que pode causar prejuízos à saúde humana. Na tentativa de amenizá-lo, tem-se lançado mão da nutrição nitrogenada na forma amoniacal (N-NH₄⁺), cujos efeitos podem ser vantajosos ou não, dependendo da sensibilidade da espécie, bem como do nível de N a que a planta seja submetida (Raven et al., 1992). As soluções nutritivas usadas em hidroponia contêm vários níveis de nitrogênio, bem como várias relações N-NO₃⁻ : N-NH₄⁺ (Jones, 1983), sendo que algumas dessas soluções podem conter apenas nitrogênio na forma nítrica (Castellane e Araújo, 1994). A assimilação do N-nítrico passa primeiro pela redução à NH₃ pelos complexos enzimáticos Nitrato Redutase e Nitrito Redutase. A atividade da Nitrato Redutase (ANR) tem sido estudada como ponto chave na assimilação do NO₃⁻ pelas plantas, além de indicar o fluxo de NO₃⁻ citoplasmático nas células. Quando o N fornecido às plantas está na forma amoniacal, geralmente há queda na ANR. Em contrapartida, a nutrição nitrogenada amoniacal em pequenas doses ("pulsos"), tem promovido o aumento significativo tanto da ANR quanto de N-protéico nas folhas de *Brachiararia* sp. (Fernandes et al., 1978) como em *Paspalum notatum* (Bendix et al., 1982).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do uso de N-NH₄⁺ contínua e intermitentemente em solução nutritiva sobre a atividade da Nitrato Redutase e sobre o teor de N-protéico nos tecidos da alface cultivada hidroponicamente em sistema NFT (Nutrient Film Technique).

MATERIAL E MÉTODOS.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação com alface do tipo "crespa" da cultivar "Vera", cultivada em sistema hidropônico (NFT), composto de um reservatório de solução nutritiva de 100 L, uma bomba de 32 W para recirculação da solução nutritiva (tipo máquina de lavar roupas), tubos de PVC 25 mm de diâmetro e canais de cultivo de PVC de 100 mm de diâmetro do tipo Hidrogood®. Doze dias após o semeio (DAS) em espuma fenólica, as plântulas foram transferidas para canais, recebendo a solução de Furlani (1997), à metade da força iônica. Aos 21 DAS as plantas foram homogeneizadas para 20 por repetição, sendo conduzidas por mais nove dias antes da aplicação dos tratamentos, conforme Furlani (1997). Foram utilizados quatro tratamentos com quatro repetições, onde cada canal foi considerado como parcela experimental. O tratamento 4 (Quadro 1) recebeu N na forma amoniacal continuamente, o tratamento 2 apenas um "pulso" de amônio (seis dias antes da segunda coleta de plantas) e o tratamento 3, dois pulsos de amônio (seis dias antes da segunda e da terceira coleta). A correção do pH da solução nutritiva foi feita diariamente com o uso de NaOH e H₂SO₄. Os nutrientes foram repostos com base na condutividade elétrica (CE) da solução com adição da solução inicial concentrada. Nos tratamentos 2 e 3, utilizou-se a solução do tratamento 1 para a correção diária da CE.

Quadro 1. Composição das Soluções Nutritivas Usadas nos Tratamentos.

Treatamento	N-NO ₃ ⁻	N-NH ₄ ⁺	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Mo	Zn
----- mg L ⁻¹ -----													
1	100		20	92	71	19	26	0,3	0,02	2	0,4	0,06	0,06
2	100	*	20	92	71	19	26	0,3	0,02	2	0,4	0,06	0,06
3	100	*	20	92	71	19	26	0,3	0,02	2	0,4	0,06	0,06
4	80	20	20	92	71	19	26	0,3	0,02	2	0,4	0,06	0,06

* O "pulso" de NH₄⁺ foi na quantidade de 20 mg L⁻¹ seis dias antes de cada coleta, na forma de sulfato de amônio.

Foram feitas quatro coletas (cinco plantas) para cada parcela durante o experimento, em 20 de junho, 02, 08 e 14 de julho de 2000. As plantas foram coletadas pela manhã, enquanto apresentavam o estado de máxima turgência das células. Após a coleta, foram retiradas a quinta folha e a região do caule da mesma folha para compor a amostra (Cometti et al., 2001). O N-protéico foi determinado na massa seca, pelo método micro-Kjeldahl (Fernandes et al., 1978). Uma fração de 0,2 g de massa fresca foi incubada para a determinação da atividade da nitrato redutase (Ferrari et al., 1973). Os dados de ANR foram transformados por \sqrt{x} para a análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO.

Os resultados da atividade da nitrato redutase (ANR) (Figura 1) mostram um aumento significativo da ANR na folha ao longo do tempo, acompanhada de redução da atividade no caule, em todos os tratamentos. A utilização contínua de N-NH_4^+ na solução nutritiva (trat. 4), parece não interferir na ANR, ao passo que a aplicação de pequenas doses, como no tratamento 3 aos 48 DAS, promove um pico de ANR seis dias após sua aplicação. Aparentemente, a aplicação de pulsos de amônio induz ao aumento da síntese protéica, elevando, conseqüentemente o nível da nitrato redutase, que levaria ao aumento da ANR. Resultados semelhantes, com aplicação de pequenas doses de N-NH_4^+ foram obtidos em *Paspalum notatum* (Bendix et al., 1982) e em *Brachiaria* sp. (Fernandes et al., 1978). O aumento da ANR em função de "pulsos" amônio está de acordo com a proposta de síntese "de novo" no controle da atividade (Li e Oaks, 1993). Inexplicavelmente, aos 30 DAS, o tratamento 1 apresentou alta ANR em relação aos outros tratamentos, apesar de ainda não ter sido aplicado qualquer pulso de amônio.

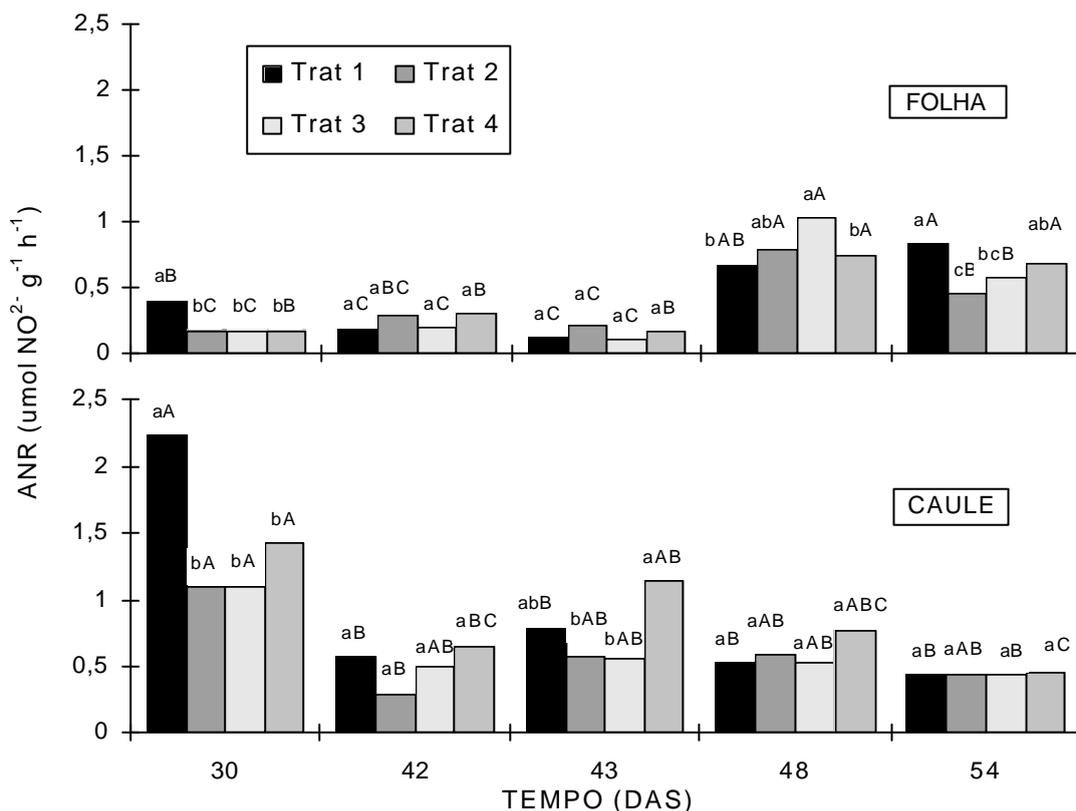


Figura 1. Atividade da nitrato redutase na alface em cultivo hidropônico - sistema NFT. Trat. 1- 100% N-NO_3^- ; Trat. 2- Um pulso de N-NH_4^+ ; Trat. 3- Dois pulsos de N-NH_4^+ ; Trat. 4 - 80% N-NO_3^- e 20% N-NH_4^+ . Letras iguais sobre as barras não diferem ao nível de P \leq 5%. Letras minúsculas comparam tratamentos e maiúsculas comparam datas de coleta.

O caule apresentou ANR significativamente mais elevada do que a folha até os 43 DAS, reduzindo-se para valores menores que a folha aos 48 e 54 DAS. Como o caule da alface parece possuir uma característica peculiar de acumular N-NO_3^- para posterior remobilização para os tecidos da folha, a partir dos 48 DAS, aparentemente a indução da ANR no caule é reduzida e a ANR na folha é incrementada. A regulação da ANR está diretamente relacionada com a

disponibilidade de NO_3^- no meio, ou no "pool" metabólico, constituído pelo citoplasma celular (Ferrari et al., 1973).

Os dados de N-protéico são apresentados na Figura 2, mostrando que, no geral, não variam ao longo do tempo na folha, mas são bastante reduzidos no caule. Esses dados contribuem para explicar as variações de ANR na folha e no caule, pois ao final do período analisado, 54 DAS, a ANR no caule cai bastante, mostrando também menor mobilização de N na forma protéica, ou assimilada.

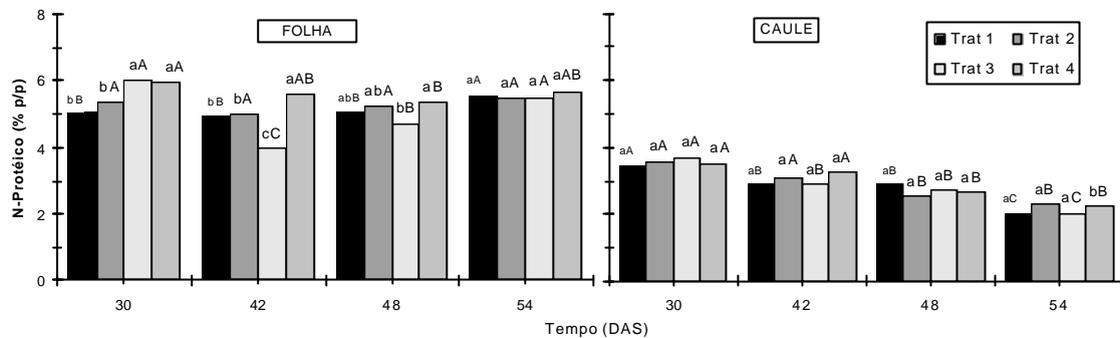


Figura 2. Teor de N-protéico na alface em cultivo hidropônico - sistema NFT. Trat. 1- 100% N-NO_3^- ; Trat. 2- Um pulso de N-NH_4^+ ; Trat. 3- Dois pulsos de N-NH_4^+ ; Trat. 4 - 80% N-NO_3^- e 20% N-NH_4^+ . Letras iguais sobre as barras não diferem ao nível de P \leq 5%. Letras minúsculas comparam tratamentos e maiúsculas comparam datas de coleta.

CONCLUSÕES.

A ANR aumentou significativamente com o tempo nos tecidos das folhas em todos os tratamentos, enquanto, numa tendência inversa, reduziu-se nos tecidos do caule.

O efeito dos pulsos de amônio na ANR só foi observado seis dias após o segundo pulso no tratamento três, aumentando significativamente na folha. Porém, aos 54 DAS, todos os tratamentos que receberam amônio apresentaram menor ANR do que o tratamento 1, apenas com N-NO_3^- na solução nutritiva.

A aplicação contínua ou de pulsos de amônio parece não interferir muito no teor de N-protéico nos tecidos ao final do ciclo da cultura. Ocorreu redução do N-protéico apenas após a aplicação de dois pulsos de amônio, no tratamento 3. Ao final do ciclo houve redução no teor de N-protéico caulinar em todos os tratamentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- CASTELLANE, P.D. & ARAÚJO, J.A.C. **Cultivo sem solo – hidroponia**. Jaboticabal, FUNEP/UNESP, 1994. 43 p.
- COMETTI, N.N.; MATIAS, G.C.S., FERNANDES, M.S. **Variação da atividade da nitrato redutase nas diferentes partes da alface cultivada em hidroponia – sistema NFT**. In: XXIV CBCS, Londrina, 2001. **Anais**. Londrina, SBCS, 2001.
- 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.
- FURLANI, P.R. **Instruções para o cultivo de hortaliças de folhas pela técnica de hidroponia -NFT**. Campinas, Instituto Agrônomo, 1997. 30 p. (Boletim técnico, 168).
- JONES Jr., J. B. **A Guide for the Hydroponic & Soilless Culture Grower**. Portland, Timber Press, 1983. 124 p.
- LI, X.Z.; OAKS, A. Induction and turnover of nitrate reductase in *Zea mays*. **Plant Physiol** 102: 1251-7, 1993.
- RAVEN, J. A.; WOLOLENWEBER, B.; HANDLEY, L.L. A comparison of ammonium and nitrate as nitrogen sources for photolithotrophs. **New Phytol.**, 121: 19-32, 1992.