

TRANSPORTE DE NITROGÊNIO EM FUNÇÃO DE VÁRIAS PROPORÇÕES DE NITRATO E AMÔNIO¹

JOSÉ SEBASTIÃO MACHADO SILVEIRA², RENATO SANT'ANNA,
ALEMAR BRAGA RENA e RASMO GARCIA³

RESUMO - O experimento foi conduzido em solução nutritiva com capim-colonião (*Panicum maximum* Jacq), em casa de vegetação. Aos 25 dias de idade, grupos de plantas foram submetidos a 100 ppm de nitrogênio, distribuídos na proporção de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ de 100/0, 75/25, 50/50, 25/25 e 0/100. Decorridas 3, 24, 48 e 72 horas de exposição aos tratamentos, decapitaram-se seis plantas de cada grupo, a 1,5 cm da base, e coletaram-se as exsudações do xilema por 20 min. O nitrato representou cerca de 80% das formas nitrogenadas de exsudação xilemática no tratamento 100/0. A participação do amônio variou de 7 a 15% nos diferentes tratamentos. Observou-se a predominância da lisina, histidina, arginina, serina, alanina e glutamina nas proporções mais elevadas de nitrato. Por outro lado, elevando-se a concentração de amônio no meio de cultivo, esta predominância ficou com a asparagina e a glutamina. A glutamina constituiu a principal forma orgânica de transporte do nitrogênio em capim-colonião.

Termos para indexação: nutrição vegetal, capim-colonião, *Panicum maximum*.

NITROGEN TRANSLOCATION AS A FUNCTION OF THE PROPORTION OF NITRATE AND AMMONIUM

ABSTRACT - An experiment was carried out utilizing Guineagrass (*Panicum maximum* Jacq) in a nutritive solution, under greenhouse conditions. When the plants were 25 days old, groups of them received 100 ppm of nitrogen in the form of $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ in the proportion of 100/0, 75/25, 50/50, 25/25 and 0/100. Six plants of each group were cut at 1,5 cm from the base, 3, 24, 48 and 72 hours after the treatments. Xylem exudates were collected during 20 minutes. Nitrate represented about 80% of the xylem nitrogen in the 100/0 treatment. Ammonium varied from 7 to 15% depending on the treatments. Lysine, histidine, arginine, serine, alanine and glutamine were predominant in the highest nitrate treatments. On the other hand, asparagine and glutamine were predominant at highest ammonium concentration in the medium. Glutamine was the main organic nitrogen translocation compound in *Panicum maximum*.

Index terms: plant nutrition, *Panicum maximum*.

INTRODUÇÃO

A assimilação do nitrogênio nas raízes e seu transporte para a parte aérea se dão, principalmente, nas formas de asparagina, aspartato, glutamina e glutamato (Muhammad & Kumazawa 1974, Kumazawa & Muhammad 1974 e Yoneyama & Kumazawa 1975). A relativa importância de cada uma destas formas depende de espécie (McClure & Israel 1979 e Pate 1972) e, sobretudo, da fonte de suprimento do nitrogênio inorgânico (Oji & Izawa 1972).

Weissman (1964) verificou que as amidas contribuíram com 19%, 43% e 71% do nitrogênio total do exsudato do xilema de girassol tratado com nitrato, nitrato mais amônio, e amônio, respectivamente. Mostrou, ainda, que, no tratamento nitrato mais amônio, 54% do nitrogênio total do exsudato foi inorgânico, tendo o amônio livre representado 25% deste valor. Em *Lupinus albus*, submetido à nutrição nítrica, as amidas glutamina e asparagina — principalmente a última — foram as formas nitrogenadas predominantes na seiva xilemática (Atkins et al. 1979). Por outro lado, McClure & Israel (1979), cultivando plantas não inoculadas de *Glycine max* em solução nutritiva contendo nitrato, constataram que as principais formas de transporte foram as nítricas e a amídica.

Estudando a assimilação do nitrogênio nítrico em nitrogênio orgânico em numerosas espécies de plantas, Pate (1972) e Goh & Haynes (1978) classificaram-nas em três grupos, de acordo com a

¹ Aceito para publicação em 11 de dezembro de 1984.
Parte do trabalho de tese do primeiro autor apresentado como um dos requisitos ao grau de Mestre em Fisiologia Vegetal na Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG.

² Eng. - Agr., M.Sc., EMCAPA, Caixa Postal 162, CEP 29900 Linhares, ES.

³ Eng. - Agr., Ph.D., Professor Titular da UFV.

participação dessas formas de nitrogênio, em decorrência das atividades do sistema redutase do nitrato nas raízes e nas folhas. Por exemplo, o nitrogênio da seiva xilemática de *Malus domestica* apresentou-se, em sua quase totalidade, na forma orgânica, fato indicativo de uma alta atividade do sistema redutase de nitrato radicular; por outro lado, mais de 95% do nitrogênio do exsudato de *Xanthium* encontravam-se nas formas nítricas, evidenciando baixa eficiência do referido sistema nas raízes. Contudo, a maior parte das espécies constitui uma categoria intermediária, exibindo, nas seivas xilemáticas, tanto nitrato quanto nitrogênio orgânico.

Por ser o capim-colonião uma das forrageiras tropicais mais cultivadas no País e considerando-se a necessidade de se obter melhor conhecimento a respeito de sua nutrição nitrogenada, decidiu-se investigar os efeitos do nitrato, do amônio e de suas combinações sobre a natureza das formas nitrogenadas transportadas pela seiva xilemática desta gramínea.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, utilizando-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, no esquema fatorial tipo 5 x 4, onde 5 re-

presenta as proporções de nitrato/amônio, e 4, as épocas de coleta.

Sementes de capim-colonião foram germinadas em placas-de-petri, por um período luminoso de 16 h a 30°C, seguido de um período escuro de 8 h a 20°C. Após a emissão das radículas, o material vegetal foi transferido para um leito de areia esterilizada. Durante os nove primeiros dias de idade, as plântulas receberam irrigações diárias, com a solução nutritiva contendo apenas nitrato (Tabela 1).

No décimo dia de idade, grupos de 24 plantas foram transferidos para cada um dos cinco caixotes de madeira de 30 l, revestidos internamente com plástico, contendo a mesma solução nutritiva usada nas irrigações anteriores, sob constante arejamento. Nos quatorze dias subsequentes, reconstituíram-se, semanalmente, as soluções nutritivas pela adição dos seus seis componentes nas concentrações indicadas na Tabela 1, e ajustou-se, diariamente, o pH para 5,5. Aos vinte e cinco dias de idade, cada grupo de plantas foi, então, submetido à solução nutritiva de tratamento contendo 100 ppm de nitrogênio, distribuídas nas formas nítrica e amoniacal, nas proporções de 100/0, 75/25, 50/50, 25/75 e 0/100, respectivamente (Tabela 1).

Decorridas 3, 24, 48 e 72 horas de exposição às soluções nutritivas de tratamento, procedeu-se à decapitação de seis plantas de cada grupo, a 1,5 cm da base. Coletaram-se, conjuntamente, os exsudatos dos xilemas de cada tratamento, durante 20 minutos, por meio de pipeta de Pasteur, os quais foram transferidos para tubos plásticos imersos em salmoura a -15°C.

As coletas foram sempre entre as 10 e as 11 horas da manhã. A primeira gota foi descartada, a fim de redu-

TABELA 1. Composição das soluções nutritivas utilizadas nos experimentos.

Solução estoque (M)	Sal	Proporções de nitrato/amônio*				
		0/100	25/75	50/50	75/25	100/0
		Volume tomado (ml/l)				
0,01	CaSO ₄	150,00	150,00	150,00	-	-
1,0	CaCl ₂	1,00	1,00	1,00	0,20	-
1,0	MgSO ₄	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,0	NH ₄ H ₂ PO ₄	0,40	1,00	-	1,00	-
1,0	(NH ₄) ₂ SO ₄	3,37	1,29	-	-	-
0,5	K ₂ SO ₄	2,40	3,00	2,00	1,50	-
1,0	KH ₂ PO ₄	0,60	-	1,00	-	1,00
1,0	NH ₄ NO ₃	-	1,78	3,57	0,78	-
1,0	KNO ₃	-	-	-	-	2,00
1,0	NaNO ₃	-	-	-	-	0,14
-	Micronutrientes**	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

* Nitrogênio total igual a 100 ppm

** Solução de micronutrientes recomendada por Clark & Brown (1974).

zir a possibilidade de contaminação com a seiva floemática. Adicionou-se uma gota de uma mistura de tolueno: xileno (1:1 v/v) ao exsudato de cada tubo, para impedir o desenvolvimento de microorganismos, seguindo-se o armazenamento do material em congelador, a -20°C , até o seu processamento analítico.

O nitrogênio total (incluindo nitrato) foi determinado no exsudato do xilema, submetendo-se alíquotas destes materiais à digestão sulfo-salicílica, conforme técnica descrita por McClure & Israel (1979), seguindo-se a avaliação do íon amônio pela reação com fenol alcalino, segundo Cataldo et al. (1974).

As quantidades de nitrogênio nítrico e amoniacal foram avaliadas mediante a reação do fenol alcalino, segundo Cataldo et al. (1975) e Cataldo et al. (1974), respectivamente.

A dosagem dos aminoácidos livres totais no exsudato procedeu-se de acordo com a técnica da cromatografia

de troca iônica, segundo Spackman et al. (1958), empregando-se um analisador automático de aminoácidos BECKMAN, modelo 121. Utilizou-se, como solução de referência, uma mistura sintética, contendo $0,5 \mu\text{mol/ml}$ de cada um dos 17 aminoácidos presentes em hidrolisados protéicos e do padrão interno (norleucina). A avaliação das amidas glutamina e asparagina foi obtida pela diferença entre os teores dos ácidos glutâmico e aspártico, respectivamente, nas frações hidrolisadas e não hidrolisadas.

RESULTADOS, DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A contribuição do nitrogênio nítrico para o nitrogênio total do fluido xilemático se relacionou diretamente com a concentração do nitrato na solução nutritiva (Fig. 1). Na proporção 100/0,

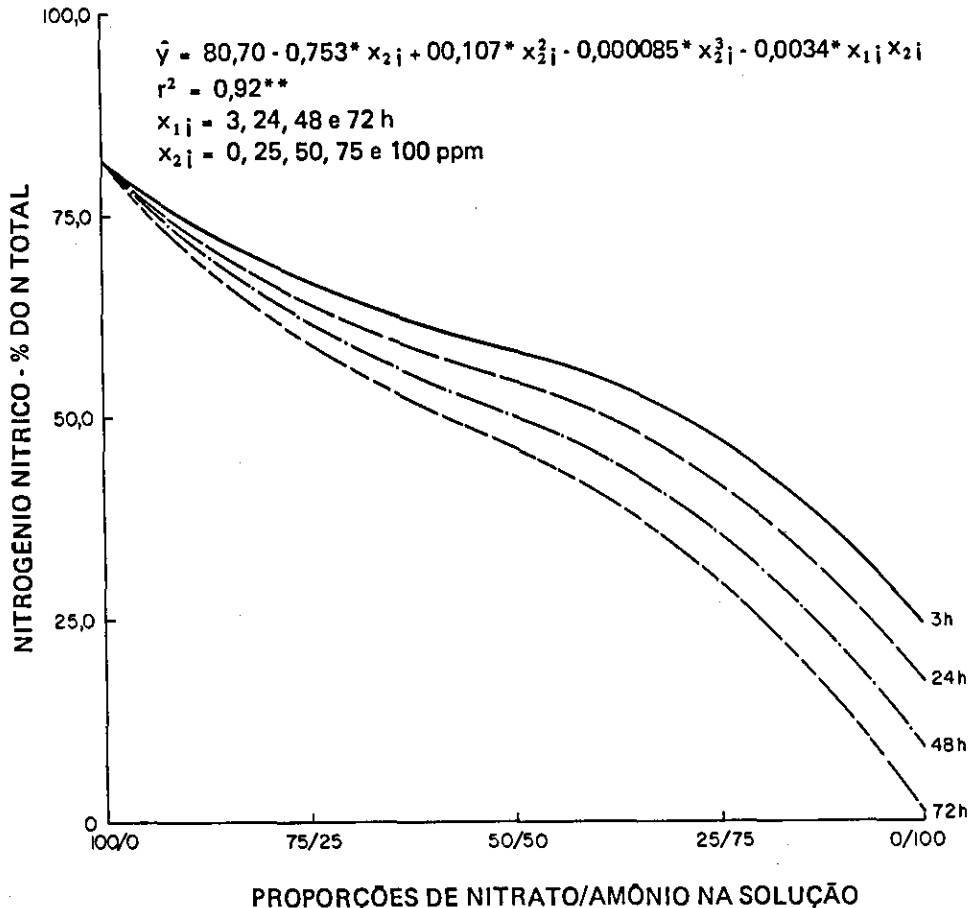


FIG. 1. Percentagem de nitrogênio nítrico, em relação ao nitrogênio total no exsudato do xilema de plantas de capim-colônião (*Panicum maximum* Jacq.), em função do tempo e das proporções de nitrato/amônio. (**e *significativos a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente).

essa contribuição alcançou cerca de 80%, indicando ter o sistema redutase do nitrato radicular reduzido apenas 20% do nitrato absorvido. A presença de quantidades apreciáveis de nitrato, no tratamento 0/100, resultou do cultivo inicial das plantas sob nutrição exclusivamente nítrica. Essa contribuição decresceu de um valor aproximado de 30% para, praticamente, 0%, com 3 e 72 horas de exposição ao tratamento amoniacal, respectivamente.

O nitrogênio amoniacal (Fig. 2) apresentou ponderável participação (7% a 15% do nitrogênio total, aproximadamente) no transporte do nitrogênio, à semelhança do relatado por Ivanko & Ingversen (1971), em milho, e Weissman (1972), em girassol. A sua curva de variação com os teores de nitrato e amônio na solução nutritiva foi de natureza quadrática, exibindo um máximo em torno da proporção de 50/50, decrescendo com a elevação de teores de amônio, inclusive com relação à

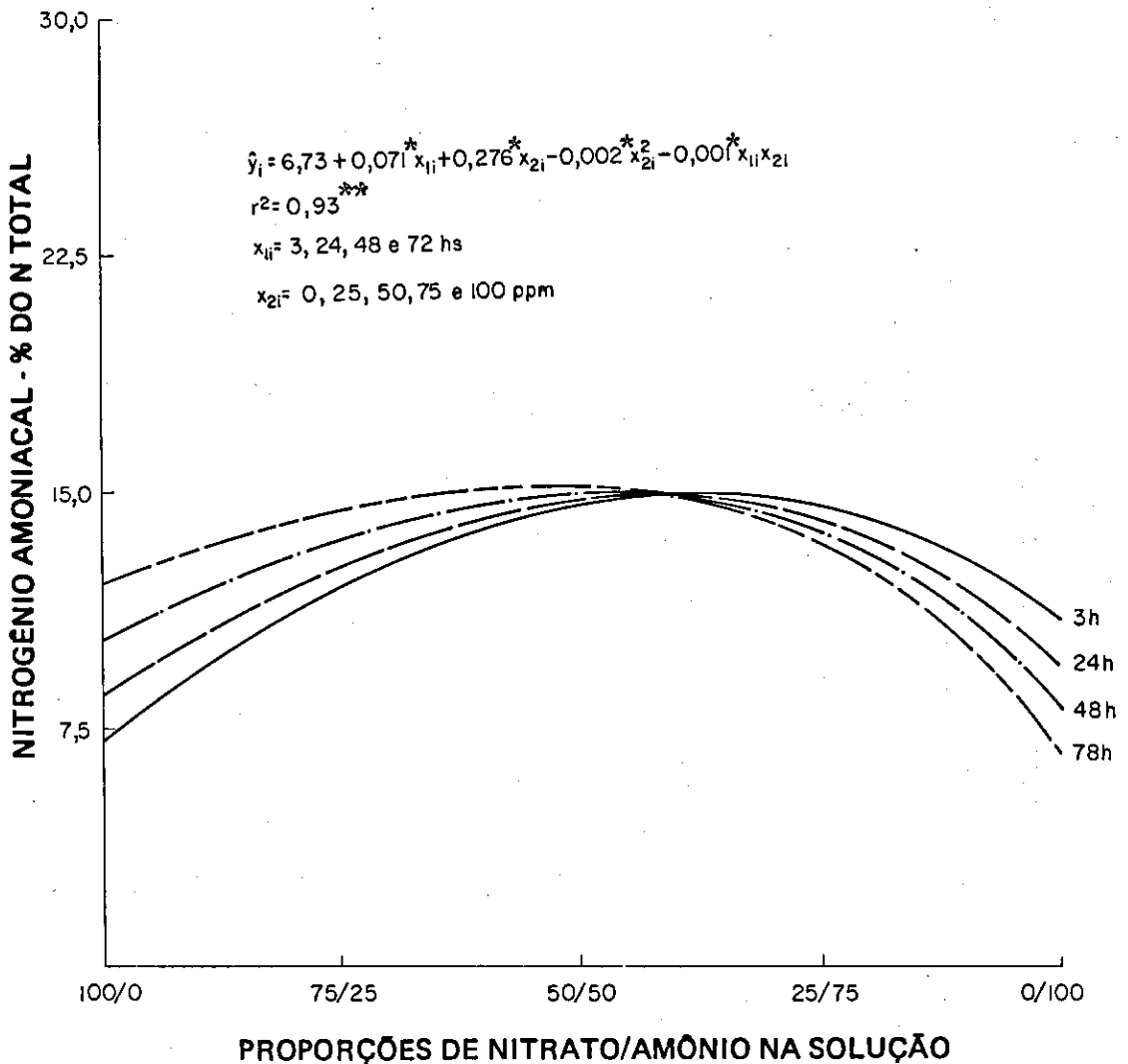


FIG. 2. Percentagem de nitrogênio amoniacal, em relação ao nitrogênio total no exsudato do xilema de plantas de capim-colonião (*Panicum maximum* Jacq.), em função do tempo e das proporções de nitrato/amônio. (** e * significativos aos níveis de 1% e 5% de probabilidade, respectivamente).

época de coleta de exsudato. A detecção de quantidades significativas de amônio nos exsudatos, no tratamento 100/0, mostra claramente que a assimilação do nitrato reduzido no sistema radicular foi incompleta, sugerindo uma atividade do sistema de assimilação do amônio pouco eficiente. Por outro lado, o decréscimo da contribuição do nitrogênio amoniacal, a partir do tratamento 50/50, indica maior eficiência de sua assimilação, possivelmente pela participação mais efetiva de outra rota assimilatória.

O aumento da proporção de amônio na solução nutritiva promoveu uma crescente participação do nitrogênio de aminoácidos com forma de transporte do nitrogênio (Fig. 3), especialmente a partir do tratamento 50/50. Segundo Suzuki & MacLeod (1970), isto se dá a fim de neutralizar o excesso de amônio absorvido pelas raízes.

Com respeito à composição da fração aminoácidos, a Fig. 3 evidencia que, o substancial acréscimo da participação da asparagina no transporte do nitrogênio, verificado nas proporções mais elevadas

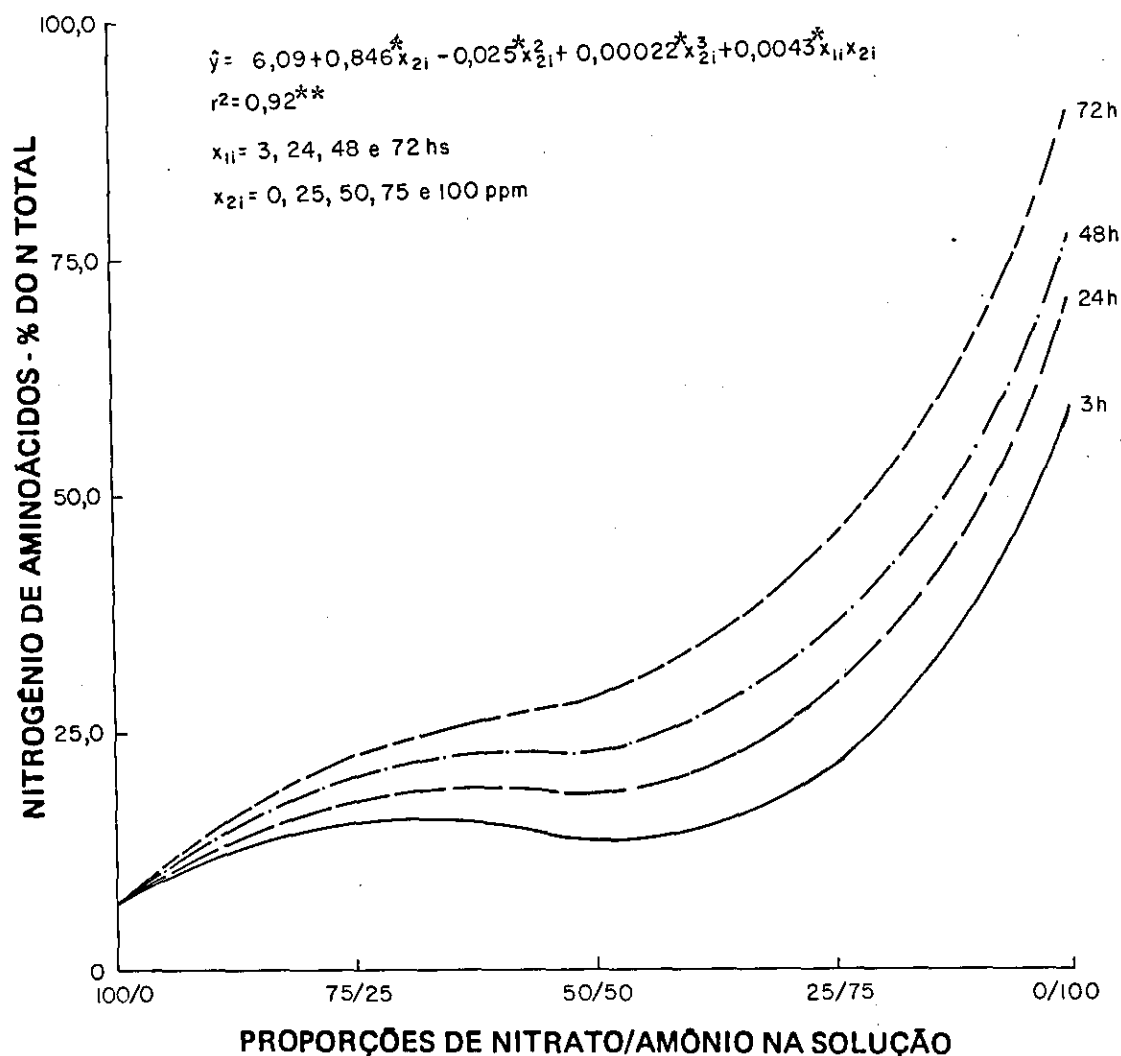


FIG. 3. Percentagem de nitrogênio amoniacal, em relação ao nitrogênio total no exsudato do xilema de plantas de capim-colônião (*Panicum maximum* Jacq.), em função do tempo e das proporções de nitrato/amônio. (** e * significativos a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente).

de amônio na solução nutritiva, à medida que aumentou o período de tratamento, parece ter resultado do decréscimo ocorrido para a fração "outros aminoácidos" ou seja lisina, histina, arginina, serina e alanina, principalmente (Fig. 5) e da glutamina (Fig. 6). Isto poderia significar que as proporções mais elevadas de amônio estivessem sendo prejudiciais à atividade da GOGAT e benéficas à atividade da sintetase da asparagina. A este respeito, Mifflin & Lea (1976) relatam que altos teores de

amônio reduzem a inibição ocasionada pela ATP e α -ceto-glutarato, da síntese de asparagina. Por outro lado, sob estas condições a via GOGAT passa a ser limitada pelo fornecimento de substrato; isto favoreceria a transformação da glutamina em asparagina, a qual possui menor relação C/N, representando um processo econômico de utilização de esqueletos carbonados (Mifflin & Lea 1977 e Goh & Haynes 1978).

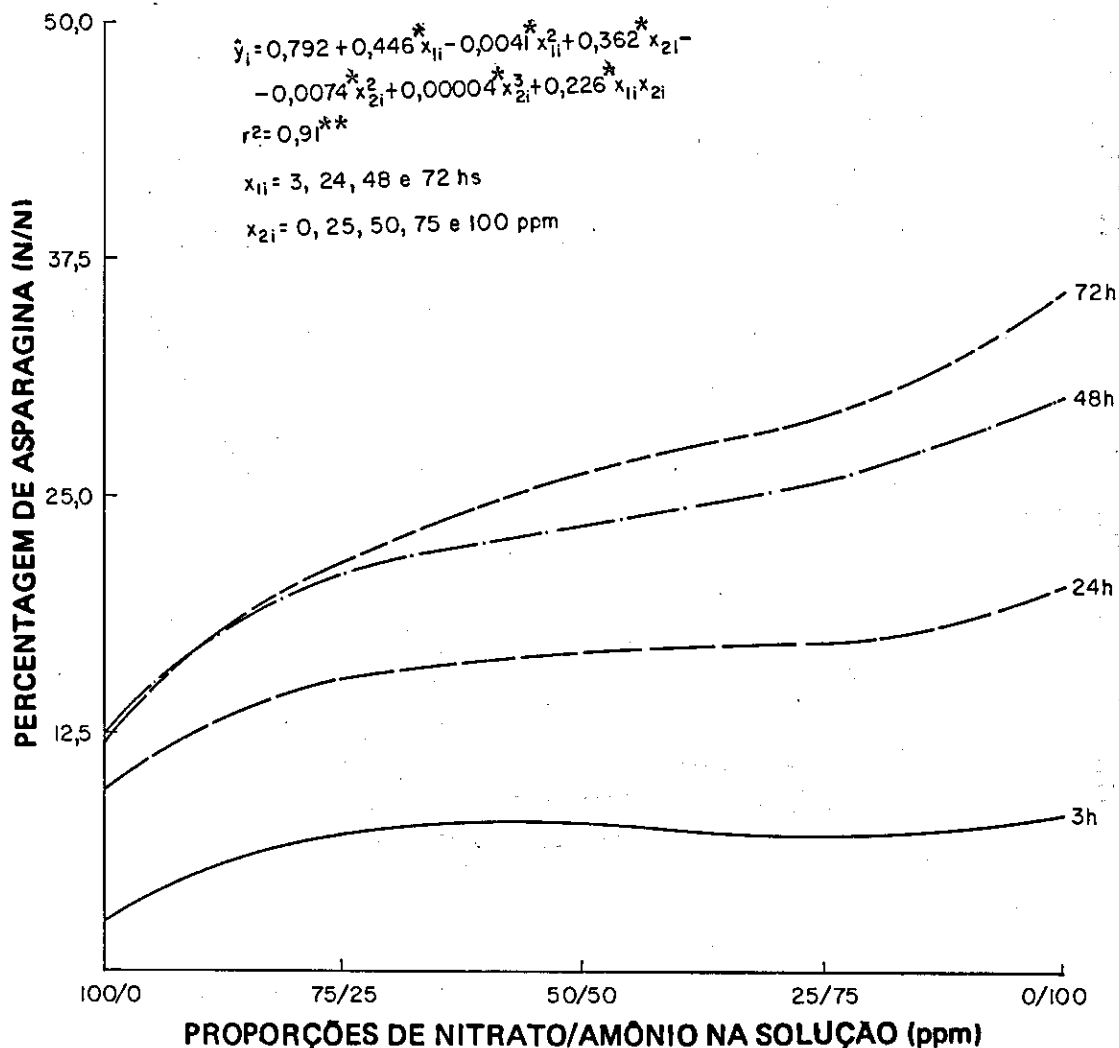


FIG. 4. Percentagem de asparagina, em relação ao teor de aminoácidos totais no exsudato do xilema de plantas de capim-colômbio (*Panicum maximum* Jacq.), em função do tempo e das proporções de nitrato/amônio. (** e * significativos aos níveis de 1% e 5% de probabilidade, respectivamente).

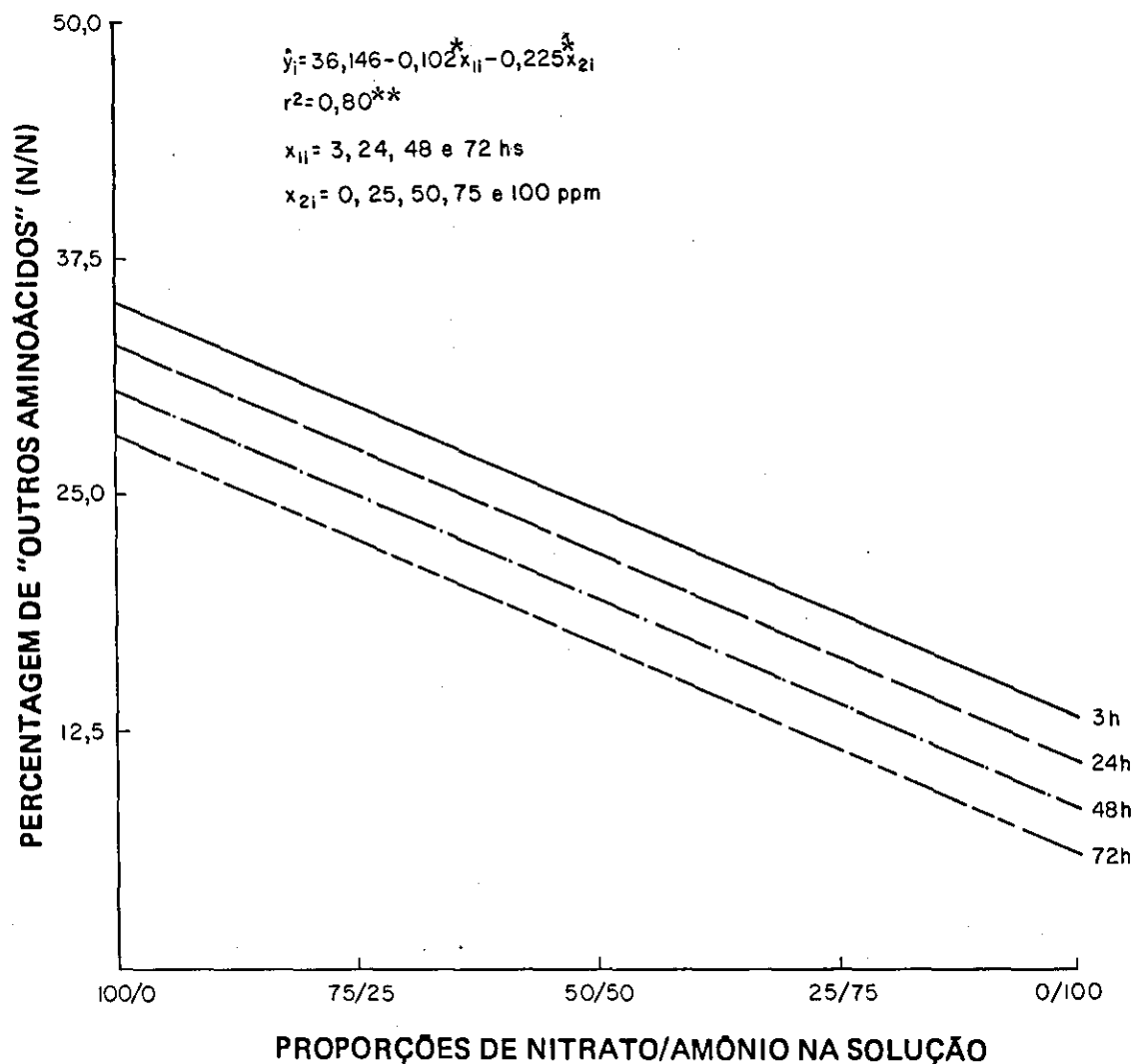


FIG. 5. Percentagem de fração denominada de "outros aminoácidos", em relação ao teor de aminoácidos totais no exsudato do xilema de plantas de capim-colonião (*Panicum maximum* Jacq.), em função do tempo e das proporções de nitrato/amônio. (** e * significativos aos níveis de 1% a 5% de probabilidade, respectivamente).

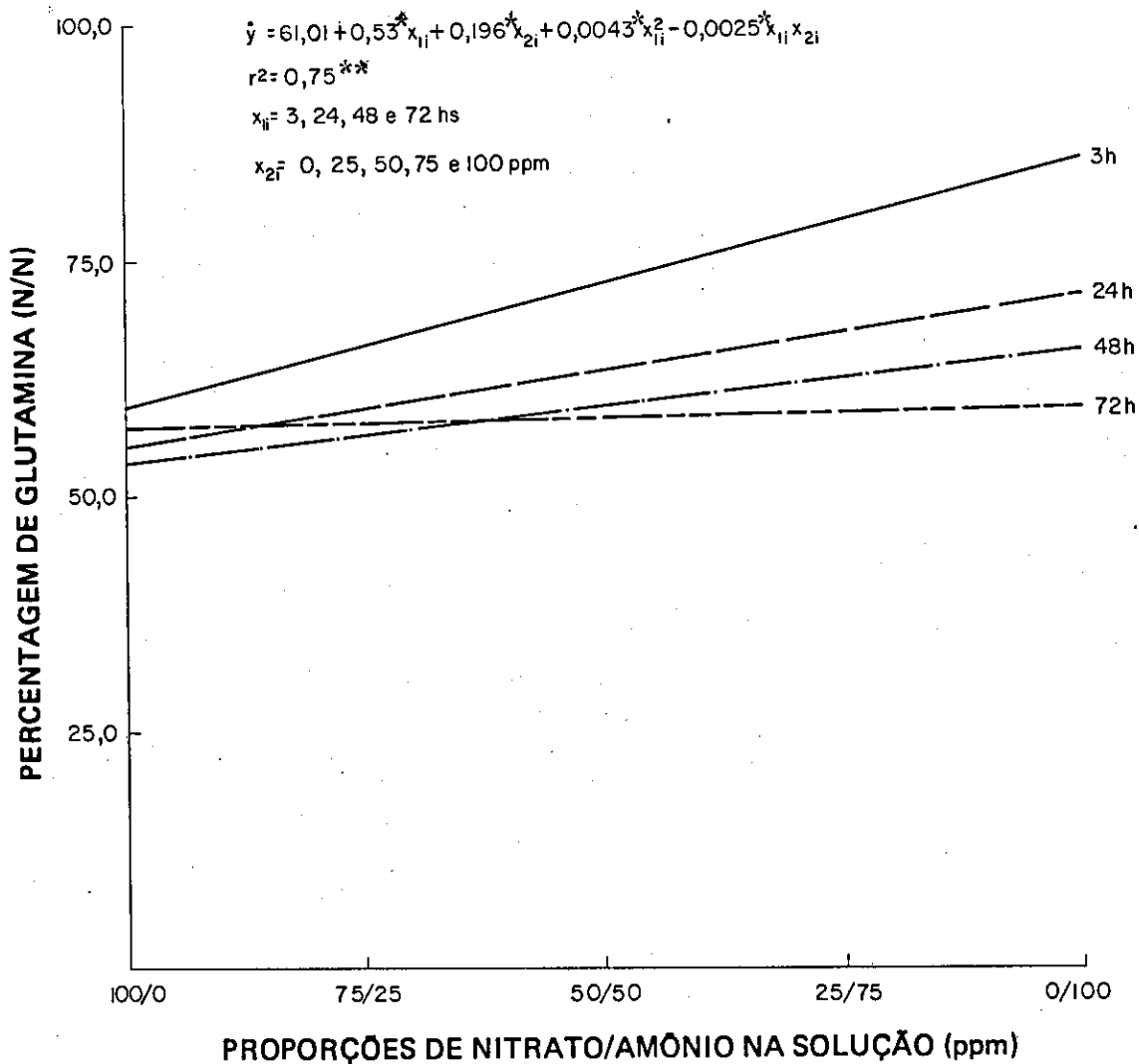


FIG. 6. Percentagem de glutamina, em relação ao teor de aminoácidos totais no exsudato do xilema de plantas de capim-colonião (*Panicum maximum* Jacq.), em função do tempo e das proporções de nitrato/amônio. (** e * significativos aos níveis de 1% e 5% de probabilidade, respectivamente).

A prevalência da glutamina sobre os demais aminoácidos em todos os tratamentos, em especial no tempo de coleta de 3 horas (Fig. 4), permite sugerir ser a glutamina o principal produto de transporte do nitrogênio orgânico e, possivelmente, de assimilação. A este respeito, Yoneyama & Kumazawa (1975) evidenciaram ser a glutamina,

em arroz, o produto primário da assimilação de amônio.

REFERÊNCIAS

- ATKINS, C.A.; PATE, J.S. & LAYSELL, D.B. Assimilation and transport of nitrogen in nonnodulated (NO_2^- -grown) *Lupinus albus* L. *Plant Physiol.*, 64:1078-82, 1979.

- CATALDO, D.A.; SHRADER, L.E. & YOUNGS, V.L. Analysis by digestion and colorimetric assay of total nitrogen in plant tissue high in nitrate. *Crop Sci.*, 14:854-6, 1974.
- CATALDO, D.A.; HARRON, M.; SHRADER, L.E. & YOUNGS, V.L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 6:71-90, 1975.
- CLARK, R.B. & BROWN, J.C. Differential phosphorus uptake by phosphorus - stressed corn inbreds. *Crop Sci.*, 14:505-8, 1974.
- GOH, K.M. & HAYNES, R.J. Ammonium and nitrate nutrition of plants. *Biol. Rev.*, 53:465-510, 1978.
- IVANKO, S. & INGVERSEN, J. Investigation on the assimilation of nitrogen by maize roots and the transport of some major nitrogen compounds by xylem sap. III. Transport of nitrogen compounds by xylem sap. *Plant Physiol.*, 24:355-62, 1971.
- KUMAZAWA, K. & MUHAMMAD, S. Assimilation and transport of nitrogen in rice. I. ^{15}N labelled ammonium nitrogen. *Plant Cell Physiol.*, 15:747-58, 1974.
- MCCLURE, P.R. & ISRAEL, D.W. Transport of nitrogen in the xylem of soybean plants. *Plant Physiol.*, 64:411-6, 1979.
- MIFLIN, B.J. & LEA, P.L. Amino acid metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 28:299-329, 1977.
- MIFLIN, B.J. & LEA, P.J. The pathway of nitrogen assimilation in plants. *Phytochemistry*, 15:873-85, 1976.
- MUHAMMAD, S. & KUMAZAWA, D. Assimilation and transport of nitrogen in rice. II. ^{15}N labelled nitrate nitrogen. *Plant Cell Physiol.*, 15:759-66, 1974.
- OJI, Y. & IZAWA, G. Quantitative changes of free amino acids and amides in barley plants during ammonia and nitrate assimilation. *Plant Cell Physiol.*, 13: 249-52, 1972.
- PATE, J.S. Uptake, assimilation and transport of nitrogen compounds by plants. *Soil Biol. Biochem.*, 5:109-19, 1972.
- SPACKMAN, D.H.; STEIN, W.H. & MOORE, S. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amido acids. *Anal. Chem.*, 30:190-206, 1958.
- SUZUKI, M. & MACLEOD, L.B. Ammonium, amino and amide nitrogen levels in vegetative tissue of barley grown in hidroponic culture. *Can. J. Plant Sci.*, 50: 445-50, 1970.
- WEISSMAN, G.S. Effect of ammonium and nitrate nutrition on protein level and exudate composition. *Plant Physiol.*, 30:947-52, 1964.
- WEISSMAN, G.S. Influence of ammonium and nitrate nutrition on enzymatic activity in soybean and sunflower. *Plant Physiol.*, 49:138-41, 1972.
- YONEYAMA, T. & KUMAZAWA, K. A kinetic study of the assimilation of ^{15}N labelled nitrate in rice seedlings. *Plant Cell Physiol.*, 16:21-6, 1975.