

Assimilação de Nitrogênio por Plantas de *Panicum maximum*, cv. Vencedor, Submetidas a Diferentes Proporções NH_4^+ / NO_3^-



Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 13

Assimilação do Nitrogênio pelas Plantas de *Panicum maximum*, cv. Vencedor, Submetidas a Diferentes Proporções $\text{NH}_4^+ / \text{NO}_3^-$

Solange R. M. Andrade
Renato Sant'Anna
Paulo R. Mosquim
José Cambraia

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Cerrados

BR 020, Km 18, Rod. Brasília/Fortaleza

Caixa Postal 08223

CEP 73301-970 Planaltina - DF

Fone: (61) 388-9898

Fax: (61) 388-9879

<http://www.cpac.embrapa.br>

sac@cpac.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: *Ronaldo Pereira de Andrade*

Secretária-Executiva: *Nilda Maria da Cunha Sette*

Membros: *Maria Alice Bianchi, Leide Rovênia Miranda de Andrade,
Carlos Roberto Spehar, José Luiz Fernandes Zoby*

Supervisão editorial: *Nilda Maria da Cunha Sette*

Revisão de texto: *Maria Helena Gonçalves Teixeira /
Jaime Arbués Carneiro*

Normalização bibliográfica: *Maria Alice Bianchi /
Rosângela Lacerda de Castro*

Capa: *Chaile Cherne Soares Evangelista*

Editoração eletrônica: *Jussara Flores de Oliveira*

1ª edição

1ª impressão (2001): tiragem 300 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.
Embrapa Cerrados.

A848 Assimilação de Nitrogênio por plantas de *Panicum maximum*, cv. Vencedor, submetidas a diferentes proporções $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ / Solange R. M. Andrade ... [et al.]. – Planaltina : Embrapa Cerrados, 2001. 20 p. – (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Cerrados, ISSN 1676-918X ; 13)

1. Nitrogênio - fisiologia vegetal. 2. Fisiologia vegetal - nitrogênio. I. R.M., Solange. II. Série.

571.2 - CDD 21

© Embrapa 2001

Sumário

Introdução	7
Material e Métodos	8
Obtenção do Material Vegetal	8
Determinação da variação de pH da solução nutritiva	9
Determinação da matéria seca e da composição nitrogenada das plantas	9
Resultados e Discussão	10
Efeito na variação do pH	10
Efeito no peso da matéria seca	12
Efeito na distribuição de nitrogênio na planta	13
Conclusões	17
Referências Bibliográficas	17

Assimilação do Nitrogênio pelas Plantas de *Panicum maximum*, cv. Vencedor, Submetidas a Diferentes Proporções $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$

Solange R.M. Andrade¹; Renato Sant'Anna²;
Paulo R. Mosquim³; José Cambraia⁴

Resumo – Visando a elucidar alguns aspectos do metabolismo do nitrogênio por plantas de *Panicum maximum*, estudaram-se os efeitos da proporção $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ na variação do pH das soluções nutritivas de tratamento, no acúmulo de matéria seca e na distribuição de nitrogênio na planta. Para tal, as plantas foram cultivadas em câmara de crescimento na solução nutritiva (pH 5,5) completa, contendo nitrogênio somente na forma nítrica. Aos 25 dias depois da germinação, as plantas foram submetidas a 100 ppm de nitrogênio fornecido nas formas nítrica e amoniacal ou amoniacal, nas seguintes proporções 0/100, 25/75, 50/50, 75/25 e 100/0, durante quatro dias. O pH das soluções nutritivas foi medido e corrigido diariamente. Os resultados demonstraram que o pH aumentou na presença exclusiva de nitrato (pH 6,5) e decresceu na presença exclusiva de amônio (pH 3,5). Na presença de ambas as formas de nitrogênio, o pH permaneceu em torno de 5,0 nos dois primeiros dias e então diminuiu para cerca de 4,5 nos dias subsequentes. Esses resultados indicaram que as plantas de *Panicum maximum* absorveram o nitrato, inicialmente, porém com o tempo adaptaram-se à presença de amônio e tenderam a absorver ambas as formas. As plantas que receberam nitrato, combinados ou não com amônio, apresentaram o peso da matéria seca, N-total e N-solúvel total superiores às que receberam somente amônio como fonte de N, havendo pequena tendência de maior acúmulo na presença de ambas as fontes. No tratamento 100% de amônio, o N-total e o N-solúvel total diminuíram apreciavelmente, indicando baixa capacidade de essa espécie utilizar amônio como fonte única de nitrogênio. Os resultados indicam que, embora as plantas possam absorver as duas formas de nitrogênio, a combinação entre ambas parece ser a forma ideal para o crescimento das mesmas.

Termos para indexação: absorção de nitrogênio, amônio, nitrato, *Panicum maximum*.

¹ Biol., Dr., Embrapa Cerrados, solange@cpac.embrapa.br

² Eng. Agrôn., Ph.D., Universidade Federal de Viçosa

³ Eng. Agrôn., Dr., Universidade Federal de Viçosa, pmosquim@ufv.br

⁴ Eng. Agrôn., Ph.D., Universidade Federal de Viçosa, cambraia@ufv.br

Nitrogen Assimilation by *Panicum maximum* Plants Cultivated in Different $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ Proportion

Abstract – Aiming at elucidating some aspects of nitrogen absorption by *Panicum maximum* plants, we studied the effect of $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ proportions on pH variations in nutritional solution treatments, dry matter plant weights, and nitrogen distribution. For such, the plants were cultivated in a growth chamber in a full nutritional solution (pH 5.5), and fed with nitric nitrogen. Twenty five days after germination, plants were submitted to 100 ppm of nitrogen (N), supplied in nitric and ammonium forms, in the following proportions: 0/100, 25/75, 50/50, 75/25 and 100/0, for 4 days. The pH of the nutritional solution was measured and corrected daily. The results demonstrated that pH increases when plants are fed exclusively with a nitrate as a N source (pH 6.5) and decreases when fed exclusively with an ammonium (pH 3.5). When plants were fed with both nitrogen source pH remained around 5.0 in the two first days and decreased to about 4.5 over the next two days. These results indicate that *Panicum maximum* plants absorb nitrates only in initial stages, and after adaptation to ammonium, tend to absorb both N sources. Dry matter, total nitrogen and soluble total nitrogen was larger when plants were fed with nitrate, with or without ammonium, but they showed a tendency to grow a bit more when fed with both sources of nitrogen. Plants fed only with ammonium presented low total nitrogen and soluble total nitrogen, indicating that these plants presented low capacity to metabolize ammonium as a single nitrogen source. The results indicated that, even when plants are able to absorb only one of the two nitrogen sources, a combination of both seems to be the ideal form for *Panicum maximum* plant growth.

Index terms: nitrogen uptake, ammonium, nitrate, *Panicum maximum*.

Introdução

As fontes de nitrogênio (N) predominantes no solo são a nítrica e a amoniacal, entretanto a disponibilidade dessas fontes é fator limitante para o crescimento das plantas. A concentração de nitrato e de amônio na solução do solo varia dentro de períodos relativamente curtos e o requerimento vegetal também varia dependendo da espécie, da idade, do estágio fisiológico e da disponibilidade de carboidratos. Embora, para o uso eficiente do N disponível, as plantas tenham se adaptado para a absorção de ambas as fontes, os vegetais costumam demonstrar preferência por uma ou outra forma de N ([Causin & Barneix, 1993](#)).

A absorção de NO_3^- é ativa e contra o potencial eletroquímico. Para manter a eletroneutralidade dentro da planta, a absorção é regulada pela entrada de cátions (K^+ , Mg^{2+}) associada à entrada de H^+ . Nesse processo, a excreção de ânions (OH^- ou HCO_3^-) aumenta o pH externo, sendo movida pelo gradiente de prótons criado pela célula ao absorver o NO_3^- ([Deane-Drummond 1990](#); [Pimentel, 1998](#)). Estudos de cinética de saturação multifásica demonstraram que a absorção de NO_3^- é mediada por vários sistemas que incluem um transportador com alta afinidade de indução por nitrato e vários transportadores com baixa afinidade de indução por nitrato ([Sttit & Krapp, 1999](#)). O nitrato absorvido pode permanecer no sistema radicular ou ser translocado para a parte aérea, em ambos os locais, o nitrato pode ser estocado no vacúolo ou ser reduzido pela nitrato redutase e assimilado via sistema GS/GOGAT ([Hageman & Below, 1990](#); [Layzell, 1990](#)). Em geral, plantas que se desenvolvem em meio de cultura contendo nitrato costumam apresentar maiores teores de ácidos orgânicos, principalmente, malato ([Cramer & Lewis, 1993](#)).

A absorção de amônio parece ser um processo ativo provavelmente similar ao da absorção de K^+ e, possivelmente, pelo mesmo transportador ([Layzell, 1990](#)), sendo acompanhada por extrusão de prótons. A absorção de amônio também exhibe uma cinética de saturação multifásica com componentes de baixa e de alta afinidade ([Sttit & Krapp, 1999](#)). O amônio absorvido é assimilado via sistema GS/GOGAT, uma vez que o amônio não pode ser estocado, pois causa toxidez às plantas. Plantas que se desenvolvem em solos contendo amônio, em geral, apresentam maiores níveis de amônio e amidas ([Cramer & Lewis, 1993](#)).

Segundo [Raven \(1988\)](#) a assimilação de amônio e nitrato envolvem, teoricamente, a geração de cerca de 1,22 H^+ e 0,78 OH^- , respectivamente, que precisam ser excretados para o meio externo, levando à acidificação ou a alcalinização, respectivamente.

Este trabalho teve como objetivo estudar a absorção de amônio e de nitrato com base na alteração do pH das soluções nutritivas nas diferentes proporções de $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$, procurando relacioná-las com o crescimento das plantas *Panicum maximum* cv. Vencedor, bem como à distribuição do nitrogênio na planta.

Material e Métodos

Obtenção do Material Vegetal

Sementes de *Panicum maximum*, variedade Vencedor, foram tratadas com hipoclorito de sódio a 5% e semeadas em areia autoclavada e irrigadas com água até a germinação. Durante os dez primeiros dias depois da germinação, as plântulas foram irrigadas, a cada três dias, com uma solução nutritiva contendo 100% de nitrato (Tabela 1) e água desmineralizada nos demais dias. No décimo primeiro dia, grupos de três plântulas foram transferidos para vasos plásticos, contendo 1,5 L da mesma solução nutritiva utilizada na irrigação e sob arejamento contínuo. As plantas foram cultivadas em câmara de crescimento à temperatura de $25\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas e densidade luminosa de aproximadamente $250\text{ }\mu\text{mol fótons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, sofrendo ajustes diários de pH. Aos 25 dias depois da germinação, as plantas foram submetidas às soluções de tratamento contendo 100 ppm de nitrogênio, sob as formas nítrica e amoniacal ou amoniacal, conforme as proporções especificadas na Tabela 1. As soluções foram renovadas após um período de 48 horas e, quando completaram 96 horas, procedeu-se à coleta do material.

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com três repetições.

Tabela 1. Composição das soluções nutritivas utilizadas no experimento.

Fonte	Solução estoque (M)	Proporção Amônio/nitrato				
		0/100	25/75 Volume da Solução-Estoque (mm/l)	50/50	75/25	100/0
Ca(NO ₃) ₂	1,04	2,5	1,7	-	-	-
NH ₄ NO ₃	1,00	-	1,8	3,6	1,8	-
KNO ₃	0,80	2,5	-	-	-	-
KH ₂ PO ₄	1,00	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
KCl	0,93	2,2	2,2	2,2	2,2	-
MgSO ₄	0,60	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7
CaCl ₂	1,00	-	0,7	2,5	2,5	2,5
NH ₄ Cl	2,38	-	-	-	1,5	3,0
Micronut.	1,00	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
FeEDTA	1,00	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Fonte: Clark, 1975.

Determinação da variação de pH da solução nutritiva

O pH das soluções nutritivas foi medido diariamente no período da manhã e anotado antes de ser corrigido para 5.5. Para a correção do pH, utilizou-se HCl 1N e 0,1N, em caso de alcalinização da solução nutritiva e NaOH 1N e 0,1N, em caso de acidificação.

Determinação da matéria seca e da composição nitrogenada das plantas

As plantas foram removidas da solução nutritiva, subdivididas em parte aérea e sistema radicular, pesadas para a determinação da matéria seca. Amostras do material foram coletadas para a determinação do teor de nitrogênio total e solúvel total. A matéria seca foi determinada depois de uma secagem prévia em estufa ventilada a 80 °C, moagem e secagem a 105 °C até a obtenção do peso constante. As amostras do material foram fragmentadas e imersas em etanol fervente a 80% e armazenadas em congelador a -20 °C para processamento posterior.

O material imerso em etanol 80% foi homogeneizado (homogeneizador Marconi TE 102) até a obtenção de polpa fina. Seguiram-se mais quatro extrações sucessivas com etanol a 80%, em banho-maria em ebulição, durante uma hora cada uma. Depois de cada extração, o material foi centrifugado a 15.000 g, durante 10 minutos. Os extratos alcoólicos foram combinados, sendo o etanol eliminado por evaporação a vácuo, à temperatura de 45 °C. Em seguida, procedeu-se à remoção dos pigmentos e lipídios, por meio de quatro extrações sucessivas com igual volume de clorofórmio em funil de decantação. A fase aquosa foi evaporada a vácuo, a 45 °C, até a secura. O resíduo foi dissolvido em 10 mL de água desmineralizada, seguido de uma centrifugação a 15.000 g, durante 15 minutos e filtração em papel Whatman nº 1. Esse extrato aquoso (extrato I) foi congelado a -20 °C até o processamento posterior ([Wang & Waygood, 1962](#)). Nesse extrato foram determinados o N-total e o N-nítrico.

O extrato aquoso II foi obtido depois da precipitação das proteínas com ácido tricloroacético (TCA) a 5% ([Sodek & Wilson, 1971](#)). O sobrenadante foi transferido para tubos de 50 mL, submetido a quatro extrações sucessivas para retirar o excesso de TCA. Na fase aquosa, a água evaporou-se pelo procedimento a vácuo, à temperatura de 45 °C, até a secura. Ressuspendeu-se o resíduo em 10 mL de água desmineralizada. Nesse extrato, foram determinados os teores de N-aminoacídico e N-amoniacoal.

O N-nítrico foi determinado em ensaio colorimétrico pela reação de nitratação do ácido salicílico, conforme protocolo de [Cataldo et al. \(1975\)](#). O N-total e N-solúvel total foram determinados de acordo com a técnica descrita por [McClure & Israel \(1970\)](#), após a digestão sulfossilicídica do extrato aquoso I, seguida de avaliação do amônio pela reação do fenol alcalino ([Cataldo et al., 1974](#)). O N-insolúvel foi obtido pela diferença entre N-total e N-solúvel total.

O N-aminoacídico e o N-amoniaco foram determinados no extrato aquoso II pela técnica cromatográfica de troca iônica ([Spackman et al., 1968](#)), empregando um analisador automático de aminoácidos BECKMAN, modelo 121.

Resultados e Discussão

Efeito na variação do pH

Na [Figura 1](#), observa-se que o pH da solução nutritiva tende a subir cerca de 1 ponto na presença exclusiva da forma nítrica, confirmando a alcalinização do meio externo quando há absorção de nitrato. Segundo [Raven & Smith \(1976\)](#) para cada molécula de nitrato assimilado, produz-se praticamente uma hidroxila, que precisa ser eliminada do meio celular para evitar alterações drásticas de pH. Plantas que reduzem nitrato na raiz eliminam o excesso de hidroxila no meio externo, quando a redução ocorre na parte aérea, em geral, a hidroxila é estocada em cátion-organatos inorgânicos e translocados para o sistema radicular, no qual são quebrados e a hidroxila resultante é eliminada no meio externo ([Raven & Smith, 1976](#)). Pode-se observar que é praticamente constante o pH no tratamento unicamente com a forma nítrica, demonstrando que a planta alcançou o “steady state” de absorção de nitrato. Segundo [Stitt & Krapp \(1999\)](#) a absorção de nitrato está sujeita à regulação por meio de um mecanismo de retroalimentação. Este mecanismo pode ser mediado pelo próprio nitrato, pela amônia ou por alguns aminoácidos produzidos pelo sistema de assimilação de nitrogênio.

Neste trabalho, a presença de amônio combinado ou não com o nitrato, assim como o tempo de exposição aos tratamentos, tendeu a reduzir o pH das soluções nutritivas, indicando “preferência” pela absorção de amônio, provavelmente porque a assimilação do amônio absorvido dispense menos energia que a redução/assimilação do nitrato ([Cox & Reisenauer, 1973](#)).

É interessante notar que nas primeiras 24 horas de tratamento, nas proporções de 25/75 a 75/25, não houve variação do pH que se manteve em torno de 5,5. Esse resultado indica que o nitrato e o amônio estavam sendo absorvidos em proporções tais que, juntamente com possíveis efeitos de outros íons presentes na solução nutritiva, as raízes excretaram quantidades equivalentes de H^+ e OH^- . Entretanto, a queda no pH, observada nos dias subsequentes, indicou que o amônio passou a ser absorvido preferencialmente em relação ao nitrato, o que demonstra a adaptação da planta às “novas” condições de nutrição. O termo “preferencialmente” talvez não seja o correto, pois na realidade pode estar ocorrendo uma inibição da absorção de nitrato. Estudos da combinação amônio/nitrato sobre o processo de absorção de nitrogênio, indicam, em geral, inibição do amônio sobre a absorção líquida de nitrato, porém existem poucos estudos sobre o efeito do nitrato sobre a absorção de amônio. A inibição pode ocorrer por ação direta na redução do nitrato, por aumento do efluxo de nitrato ou pela diminuição do influxo de nitrato, sendo que a extensão do efeito do amônio depende do histórico nutricional prévio da planta. Em *Hordeum vulgare* plantas que cresceram em baixas concentrações de nitrato ($10\mu M$) foram mais sensíveis ao amônio que plantas que cresceram em concentrações comumente utilizadas de nitrato ($100\mu M$) (Deane-Drummond, 1990). Neste trabalho, não foi observada inibição da absorção do nitrato, mas houve uma aparente indução dela seguida da translocação do nitrato para a parte aérea (Andrade et al., 2001).

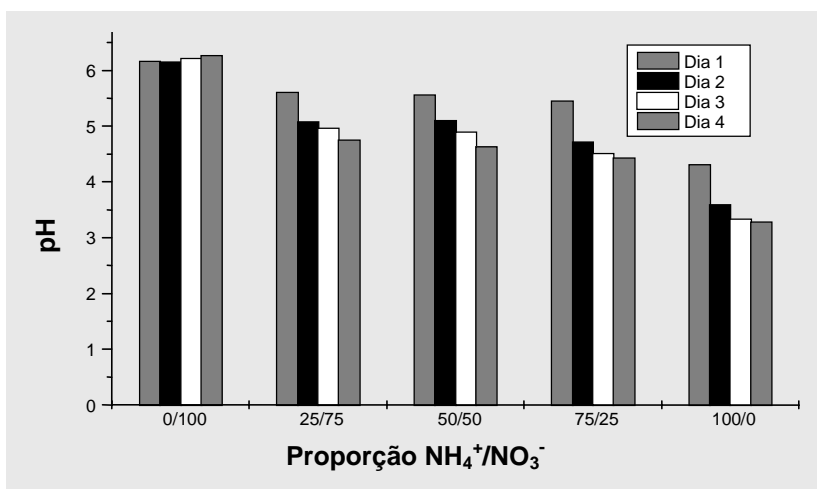


Figura 1. Efeito da proporção amônio/nitrato na variação diária de pH da solução nutritiva, na qual se desenvolviam plantas de *Panicum maximum*, cultivar Vencedor. O pH inicial 5,5.

O pH ácido da solução nutritiva do tratamento 100% de amônio ([Figura 1](#)) indica que houve absorção do íon, apesar do menor peso apresentado pelas plantas submetidas a esse tratamento (Tabela 2).

Efeito no peso da matéria seca

Na Tabela 2, observa-se que as plantas dos tratamentos que continham nitrato tenderam a apresentar peso da matéria seca superior ao das que receberam unicamente amônio. [Silveira & Sant'Anna \(1988\)](#) desenvolveram experimento semelhante com *Panicum maximum*, porém, em casa de vegetação, observando tendência de aumento do peso da matéria seca até a proporção de 50% de amônio e, a partir deste ponto, queda. Assim as diferenças de biomassa apresentada entre os dois experimentos provavelmente tenham ocorrido por causa das diferentes condições ambientais nas quais se desenvolveram as plantas. Plantas em casa de vegetação estão sujeitas a condições de luminosidade que variam de 800 a 1000 $\mu\text{mol f\acute{o}tons.m}^{-2}\text{s}^{-1}$, e o material em câmara de crescimento recebeu 250 $\mu\text{mol f\acute{o}tons.m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Essas diferenças de irradiância afetam o crescimento da planta e a assimilação de N.

Tabela 2. Peso da matéria seca da parte aérea (PA), sistema radicular (SR) e planta inteira de *Panicum maximum*, cultivar Vencedor, submetidas a diferentes proporções amônio/nitrato.

Proporção $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$	Matéria Seca (g)		
	PA	SR	Planta inteira
0/100	2,07	0,30	2,37
25/75	2,25	0,33	2,58
50/50	2,03	0,30	2,34
75/25	2,27	0,31	2,58
100/0	1,81	0,26	2,07

Em vários trabalhos, as plantas que foram cultivadas com ambas as formas de nitrogênio apresentaram maior crescimento do que as plantas cultivadas somente com uma das formas ([Blacquiére et al., 1988](#); [Cox & Reisenauer, 1973](#); [Hageman & Below, 1990](#)). Alguns autores relataram, em consequência disso, a existência de uma razão ótima entre essas duas formas de nitrogênio que promoveria maior assimilação do N (Srivastava, 1980; [Lewis et al., 1982](#)). Segundo Nair & Chaterjee (1990), o aumento de produção e do crescimento

ocorre em face de um incremento na síntese das proteínas pela rápida absorção do amônio. Com o trigo, [Cox & Reisenauer \(1973\)](#) constataram aumento de crescimento de aproximadamente 50% em plantas cultivadas, utilizando nitrato (200 μM) e amônio (40 μM), o que indica ter havido conservação de energia com assimilação do amônio que dispensa gasto de poder redutor (NADH). Esse íon, então, é oxidado via fosforilação oxidativa, aumentando a quantidade de energia na forma de ATP que pode ser utilizada para a absorção de novos íons.

O menor peso da matéria seca das plantas cultivadas, usando o amônio como única fonte de N, poderia ser atribuído a um efeito tóxico desse íon ou à incapacidade de essas plantas absorverem e utilizarem ou utilizarem todo o amônio disponível. [Silveira & Sant'Anna \(1998\)](#) observaram uma queda no crescimento de plantas de *Panicum maximum* submetidas às proporções $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ superiores a 75/25. Para arroz, foi determinado que a melhor fonte de nitrogênio é o nitrato, em altas concentrações externas (100 ppm), porque o amônio, nessas concentrações, restringe o crescimento radicular e causa distúrbios em seu metabolismo ([Nair & Chatterjee, 1990](#)). Para o trigo e o milho, constatou-se queda na biomassa das plantas supridas somente com amônio, foi sugerido que isso ocorreu devido à baixa disponibilidade de esqueletos carbônicos, pois também houve queda nas taxas fotossintéticas dessas plantas ([Cramer & Lewis, 1993](#)). O efeito do amônio, nas culturas utilizadas nas pesquisas que originaram este trabalho, poderia ser mais drástico, caso não tivesse sido feito ajuste diário do pH para 5,5 da solução nutritiva, pois, segundo [Ganmore-Neumann & Kafkafi \(1980\)](#), parte de seu efeito tóxico é resultado da gradativa acidificação do meio de cultivo em decorrência do processo de absorção desse íon.

Efeito na distribuição de nitrogênio na planta

O N-total, na parte aérea (PA), tende a aumentar até a proporção de 50% de amônio para, em seguida, cair, atingindo um mínimo no tratamento com 100% de amônio ([Tabela 3](#)). Já no sistema radicular (SR), ([Tabela 4](#)) a concentração de N-total só apresenta queda expressiva no nível de 100% de amônio. [Silveira & Sant'Anna \(1988\)](#) observaram tendência de aumento do N-total na PA, proporcional à queda no SR.

O N-solúvel total da parte aérea e do sistema radicular foi superior quando as plantas foram supridas com ambas as fontes de N e apresentou menor concentração na presença única de amônio ([Tabelas 3 e 4](#)). Esses dados,

corroboram a afirmação de [Silveira & Sant'Anna \(1988\)](#) de que, em *Panicum maximum*, o amônio estimularia a assimilação de N quando combinado com nitrato. É provável que seja em razão do aumento na síntese de proteínas, conforme sugerido por [Cox & Reisenauer \(1973\)](#) e por [Nair & Chatterjee \(1990\)](#).

Tabela 3. Nitrogênio total, solúvel total, insolúvel, nítrico, amoniacal e aminoacídico (mg N/g MS) da parte aérea de plantas de *Panicum maximum* submetidas a diferentes proporções amônio/nitrato.

Proporção $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$	Nitrogênio total	Nitrogênio sol.total	Nitrogênio insolúvel	N - NO_3^-	N - NH_4^+	N-amino ácídico	N-não- identificado
0/100	77.84	13.97	63.84	11.99	0.18	1.28	0.52
25/75	82.41	14.89	67.58	13.18	0.21	1.50	-
50/50	87.26	15.29	71.96	13.13	0.26	1.23	0.68
75/25	81.84	14.92	66.92	12.02	0.31	1.64	0.95
100/0	71.12	9.00	62.11	3.87	0.21	1.91	3.01

Tabela 4. Nitrogênio total, solúvel total, insolúvel, nítrico, amoniacal e aminoacídico (mg N/g MS) do sistema radicular de plantas de *Panicum maximum* submetidas a diferentes proporções amônio/nitrato.

Proporção $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$	Nitrogênio total	Nitrogênio sol.total	Nitrogênio insolúvel	N - NO_3^-	N - NH_4^+	N-amino ácídico	N-não- identificado
0/100	56.71	26.07	30.64	18.44	0.67	0.64	6.32
25/75	59.05	20.46	38.59	14.02	1.11	0.59	4.74
50/50	57.59	21.87	35.72	12.98	0.95	1.02	6.92
75/25	56.49	24.31	32.18	13.13	1.59	1.10	8.92
100/0	41.31	19.05	22.29	4.29	1.50	1.58	11.68

O nitrato foi, em geral, a forma predominante do N-solúvel total tanto na parte aérea quanto no sistema radicular (Tabelas 3 e 4). A concentração de nitrato na parte aérea manteve-se praticamente constante com a substituição do nitrato por amônio, seguindo-se um decréscimo na ausência de nitrato (Tabela 3). Já no sistema radicular, a presença de amônio induziu pequena queda quando ambas as fontes estavam presentes, seguido de nova queda na ausência de nitrato (Tabela 4). Isso pode indicar que, na presença de NH_4^+ , o NO_3^- absorvido

é translocado para a parte aérea onde é preferencialmente reduzido ([Andrade et al., 2001](#)), e a assimilação de NH_4^+ é mantida no sistema radicular conforme relataram [Blacquiére et al. \(1988\)](#). [Silveira et al. \(1985\)](#), contudo, constataram queda na quantidade de nitrato translocado para a parte aérea à medida que substituiu NO_3^- por NH_4^+ na solução nutritiva; ao mesmo tempo, verificaram aumento na quantidade de nitrato tanto na parte aérea quanto no sistema radicular, até a proporção de 25/75, seguido de queda contínua ([Silveira & Sant'Anna, 1988](#)).

A expressiva concentração de nitrato tanto na parte aérea quanto no sistema radicular das plantas tratadas unicamente com amônio ([Tabelas 3 e 4](#)) pode ser atribuída a um provável acúmulo de nitrato no sistema radicular durante o período inicial de crescimento com 100 ppm de N-NO_3^- e posterior metabolismo. Tal resultado corrobora com os de trabalhos que demonstraram que o nitrato acumula-se num "pool" inativo (de reserva) com permanência pequena no citoplasma ("pool" ativo). Quando necessário, o "pool" de reserva pode ser redistribuído durante o desenvolvimento da planta ([Beevers & Hageman, 1983](#)).

O nitrogênio aminoacídico e, particularmente, o amoniacal representaram, em geral, somente pequena fração do N-solúvel total. Ambos tenderam a ter suas concentrações aumentadas pela adição gradativa de amônio à solução nutritiva ([Tabelas 3 e 4](#)). Na presença de 100% de amônio na solução de tratamento, as contribuições dessas duas formas nitrogenadas para o N-solúvel total foram maiores, em face da limitação da síntese protéica e do catabolismo protéico, principalmente o N-aminoacídico que chegou a representar mais de 20% do N-solúvel total na parte aérea ([Tabela 3](#)).

O nitrogênio não-identificado adquiriu valor máximo no nível de 100% de amônio nas duas partes da planta ([Tabelas 3 e 4](#)). Embora as formas do nitrogênio não tenham sido identificadas, admite-se que elas representem produtos do catabolismo protéico produzidos pela ação tóxica do amônio quando utilizado como fonte exclusiva de nitrogênio. Nota-se que esse catabolismo deve ter sido mais acentuado nas raízes, órgão diretamente exposto às condições adversas do meio. [Durzam & Stewart \(1967\)](#) observaram o aparecimento de compostos nitrogenados não-identificados quando ocorreram a redução da síntese protéica e a do crescimento.

Quanto à composição percentual da fração amonoacídica livre (Tabela 5), observa-se que, na parte aérea, a fração amidas (glutamina + asparagina) teve sua contribuição para o N-aminoacídico aumentada gradativamente, proporcional às concentrações de glutamato e aspartato diminuíram. Já no sistema radicular, a glutamina sempre predominou sobre os demais aminoácidos, no entanto, houve aumento gradativo de concentração de asparagina e conseqüente decréscimo de aspartato. [Silveira et al., \(1985\)](#), embora tenham observado a mesma tendência de crescimento na participação conjunta das amidas, constataram que a adição gradativa de amônio à solução nutritiva resultara em aumento na contribuição de asparagina, mas no decréscimo na de glutamina.

A alta contribuição da glutamina e da asparagina no tratamento com 100% de amônio indicam um processo de desintoxicação do excesso de amônio pelo armazenamento de N ([Miflin & Lea, 1980](#)). A asparagina apresenta-se como composto ideal para armazenar o nitrogênio em excesso, uma vez que sua relação C/N é menor que a glutamina, o que representa economia de esqueletos carbônicos ([Lea & Fowden, 1975](#)). Segundo [Silveira & Sant'Anna \(1988\)](#), em experimento similar ao do *Panicum maximum*, houve queda nas taxas fotossintéticas das plantas supridas com amônio, sugerindo que a baixa disponibilidade de esqueletos carbônicos tenha sido causa indireta da toxidez de amônio apresentada pelas plantas.

Tabela 5. Composição percentual da fração de aminoácidos livres de plantas de *Panicum maximum* (*Panicum maximum* Jacq) submetidas a várias proporções de amônio/nitrato em solução nutritiva.

Formas	Proporção Amônio/Nitrato									
	0/100	25/75	50/50	75/25	100/0	0/100	25/75	50/50	75/25	100/0
	Parte aérea					Sistema radicular				
Glutamina	16.57	17.78	21.54	24.05	23.19	44.56	41.08	49.73	50.82	37.07
Asparagina	7.01	8.56	2.93	10.25	27.78	8.82	1.35	21.08	13.22	23.00
Aspartato	10.46	9.58	11.13	10.53	7.73	15.04	14.97	6.20	5.75	6.51
Glutamato	28.47	25.92	23.26	21.40	15.61	2.48	15.73	7.97	7.40	9.05
Outros	37.49	38.16	41.14	33.77	25.69	29.10	26.87	15.02	22.87	24.37

Conclusões

1. As plantas que receberam nitrato combinado ou não com amônio tendem a apresentar o peso da matéria seca N-total e N-solúvel total superiores ao das plantas que receberam apenas amônio tanto na parte aérea quanto no sistema radicular.
2. No tratamento com 100% de amônio, o peso da matéria seca diminui bastante, indicando baixa capacidade de essa espécie utilizar somente amônio como fonte de N.
3. As plantas submetidas à combinação amônio/nitrato, com o passar do tempo de exposição ao tratamento, aparentemente, absorvem mais amônio do que nitrato.
4. A concentração de aminoácidos tanto na parte aérea quanto no sistema radicular tende a elevar-se com o aumento da proporção amônio/nitrato, principalmente, a fração amidas (glutamina e asparagina) em detrimento do glutamato e aspartato.

Referências Bibliográficas

- ANDRADE, S. R. M.; SANT'ANNA, R.; CAMBRAIA, J.; MOSQUIM, P. R. **Efeito da proporção $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ na distribuição e na atividade *in vitro* da redutase do nitrato em plantas de *Panicum maximum***. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2001. (Embrapa Cerrados. Boletim de Pesquisa, 12).
- BARKER, A. V.; MAYNARD, D. N. A; LACHMAN, W. H. Induction of tomato stem and leaf lesion and potassium deficiency, by excessive ammonium nutrition. **Soil Science**, Baltimore, v. 103, p. 319-327, 1967.
- BEEVERS, L.; HAGEMAN, R. H. Uptake and reduction of nitrate: bacteria and higher plants. In: LAUCHLI, A.; BIELSKI, R. L. **Encyclopedia of plant physiology: inorganic plant nutrition**. Berlin: Springer-Verlag, 1983. p. 351-357.
- BLACQUIERE, T.; VOORTMAN, E.; STULEN, I. Ammonium and nitrate nutrition in *Plantago lanceolata* L. and *Plantago major* L. ssp. major. II. Nitrogen metabolism. **Plant and Soil**, The Hague, v. 106, p. 23-34, 1988.
- CATALDO, D. A.; HAROON, M.; SCHARADER, L. E.; YOUNG, U. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid.

Communications in Soil Science Plant Analysis, New York, v. 6, p. 71-80, 1975.

CATALDO, D. A.; SCHARADER, L. E.; YOUNG, U. L. Analysis by digestion and colorimetric assay of total nitrogen in plant tissue high in nitrate. **Crop Science**, Madison, v. 14, p. 854-856, 1974.

CAUSIN, H. F.; BARNEIX, A. J. Regulation of NH_4^+ uptake in wheat plants: Effect of root ammonium concentration and aminoacids. **Plant and Soil**, The Hague, v. 151, p. 211-218, 1993.

CLARK, R. B. Characterization of phosphatase of intact maize roots. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 23, p. 458-460, 1975.

COX, W. J.; REISENAUER, H. M. Growth and ion uptake by wheat supplied nitrogen as nitrate, or ammonium, or both. **Plant and Soil**, The Hague, v. 38, p. 363-380, 1973.

CRAMER, M. D.; LEWIS, O. A. M. The influence of NO_3^- and NH_4^+ nutrition on the carbon and nitrogen partitioning characteristics of wheat (*Triticum aestivum* L.) and maize (*Zea mays* L.) plants. **Plant and Soil**, The Hague, v. 154, p. 289-300, 1993.

DEANNE-DRUMMOND, C. E. Biochemical and biophysical aspects of nitrate uptake and its regulation. In: ABROL, Y. P. **Nitrogen in higher plants**, Somerset : Research Studies, 1990. p. 1-37.

DURZAN, D. J.; STEWART, F. C. The nitrogen metabolism of *Picea glauca* (Moench) Voss and *Pinus banksiana* Lamb affected by mineral nutrition. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 45, p. 639-646, 1967.

GANMORE-NEUMANN, R.; KAFKAFI, U. Root temperature and percentage $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ effect on tomato development. II. Nutrient composition of tomato plants. **Agronomy Journal**, Madison, v. 72, p. 762-766, 1980.

GISJMAN, A. J. Soil water content as a key factor determining the source of nitrogen (NH_4^+ or NO_3^-) absorbed by Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and the pattern of rhizosphere pH along its roots. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 21, p. 616-625, 1991.

HAGEMAN, D. H.; BELOW, F. E. Role of nitrogen metabolism in crop productivity. In: ABROL, Y.P. **Nitrogen in higher plants**, Somerset: Research Studies, 1990. p. 313-334.

- LAYZELL, D. B. N_2 fixation, NO_3^- reduction and NH_4^+ assimilation. In: DENNIS, D. T.; TURPIN, D. H. **Plant physiology, biochemistry and molecular biology**. London: Longman, 1990. p. 389-406.
- LEA, P. J.; FOWDEN, L. The purification of glutamine-dependent asparagine synthetase isolated from *Lupinus albus*. **Proceedings of the Royal Society of London**, Series B, Biological Sciences, London, v. 192, p. 13-26, 1975.
- LEWIS, O. A. M.; JAMES, D. M.; HEWITT, E. J. Nitrogen assimilation in barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Mazurka) in response to nitrate and ammonium nutrition. **Annals of Botany**, London, v. 49, p. 39-49, 1982.
- MCCLURE, P. R.; ISRAEL, D. W. Transport of nitrogen of soybean plants. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 64, p. 411-416, 1970.
- MIFLIN, B. J.; LEA, P. Ammonia assimilation. In: MIFLIN, B. J.; LEA, P. **The Biochemistry of plants**. Toronto: Academic Press, 1980. p. 169-202.
- NAIR, T. V. R.; CHATERJEE, S. R. Nitrogen metabolism in cereals: case studies in wheat, rice, maize and barley. In: ABROL, Y. P. **Nitrogen in higher plants**. Somerset Research Studies, 1990. p. 367-426.
- PIMENTEL, C. Balanço de carbono e os fatores ambientais. In: PIMENTEL, C. **Metabolismo de carbono na agricultura tropical**, Seropédica: EDUR, 1998. p. 103-159.
- RAVEN, J. A. Acquisition of nitrogen by the shoots of land plants: its occurrence and implications for acid-base regulation. **New Phytologist**, Oxford, v. 109, p. 1-20, 1988.
- RAVEN, J. A.; SMITH, F. A. Nitrogen assimilation and transport in vascular plants in relation to intracellular pH regulation. **New Phytologist**, Oxford, v. 76, p. 415-431, 1976.
- SHRADER, L. E.; DOMSKA, D.; JUNG, P. E.; PETERSON, L. A. Uptake and assimilation of ammonium-N and nitrate-N and their influence on the growth of corn (*Zea mays* L.). **Agronomy Journal**, Madison, v. 64, p. 690-695, 1972.
- SILVEIRA, J. S. M.; SANT'ANNA, R. Efeitos de nitrato e do amônio no crescimento e fracionamento do N em capim-colonião. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 135-143, 1998.

SILVEIRA, J. S. M.; SANT'ANNA, R.; RENA, A. B.; GARCIA, R. Transporte de nitrogênio em função de várias proporções de nitrato e amônio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 20, p. 15-23, 1985.

SODEK, L.; WILSON, C. M. Aminoacid composition of proteins isolated from normal, opaque-2 and flouy-2 corn endosperms by a modified osborne procedure. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 19, p. 1144-1150, 1971.

SPACKMAN, D. H.; STEIN, W. R.; MOORE, S. Automatic recording apparatus for use in the cromatography of aminoacids. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 30, p. 1190-1206, 1968.

STTIT, M.; KRAPP, A. The interaction between elevated carbon dioxide and nitrogen nutrition: the physiological and molecular background. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 22, p. 583-621, 1999.

WANG, D.; WAYGOOD, F. R. Carbon metabolism of ¹⁴C-labelled aminoacids in wheat leaves. I. A pathway of glyoxilate-serine metabolism. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 37, p. 826-832, 1962.