

# Atividade da Redutase do Nitrato em Folhas de Teca (*Tectona grandis* L. f.) sob Déficit Hídrico

Diana da Silva Castro<sup>1</sup>, Allan Klynger da Silva Lobato<sup>1</sup>, Fernanda da Silva Mendes<sup>2</sup> Cândido Ferreira de Oliveira Neto<sup>3</sup>, Raimundo Lázaro Moraes da Cunha<sup>4</sup> e Roberto Cezar Lobo da Costa<sup>4</sup>

## Introdução

A teca é reconhecida em todo o mundo como madeira tropical dura e de alta qualidade, com preços estáveis e ascendentes no mercado internacional com franca expansão em áreas cultivadas, ainda não há muitos estudos sobre os plantios com ciclos de corte mais curtos, no entanto diversos reflorestamentos com teca na Amazônia foram realizados e não a curto prazo, mas a médio e longo prazo podem substituir as madeiras duras nativas [1].

A produção mundial é de, aproximadamente, 3 milhões de metros cúbicos por ano, sendo que a maior parcela é consumida pelo mercado interno dos países produtores. O mercado internacional consome cerca de 500 mil metros cúbicos, mas a oferta ainda é muito menor que a demanda. De acordo com análises de mercado, haverá aumento de demanda devido à melhoria no padrão de vida nos países em desenvolvimento. O decréscimo da oferta de outras madeiras tropicais que ocorrem em áreas naturais como o mogno e a conscientização ambiental dos consumidores, principalmente europeus, também são fatores decisivos para o aumento da demanda [2].

O mercado brasileiro também é visto com um grande potencial de consumo, assim como de produção. Afinal, o Brasil possui áreas adequadas para plantio de teca e uma floresta tropical para preservar. A mesma é uma espécie exigente no que diz respeito a absorção de água do solo, haja vista que possui uma grande área foliar e conseqüentemente uma alta transpiração. O déficit hídrico e elevadas temperaturas apresentam alguns efeitos fisiológicos semelhante entre plantas, como redução no potencial de água, diminuição pressão osmótica da absorção de água e nutrientes, diminuição dos tecidos e outros fatores [3]. No entanto, os mecanismos moleculares devido à desidratação nos tecidos são ainda pouco conhecidos [4].

O estresse hídrico provoca reduções drásticas na atividade de redutase de nitrato já a partir de pequenos decréscimos no potencial da água [5].

Os nutrientes minerais, principalmente o N, podem influenciar o metabolismo do carbono (fotossíntese), direta ou indiretamente, pela síntese de novos tecidos e crescimento. Os efeitos diretos sobre a fotossíntese e a respiração resultam da incorporação dos

minerais em metabólitos, coenzimas e pigmentos ou de sua participação direta como ativadores no processo da fotossíntese [6].

A redutase do nitrato (RN) é a primeira enzima na via de assimilação do nitrato, e provavelmente representa o passo limitante na incorporação do nitrogênio em plantas superiores segundo Costa [6]. Em função de sua importância, ela tem sido freqüentemente utilizada como indicadora de estresses e de outras mudanças associadas aos fatores moduladores do crescimento das plantas. A falta de água na planta acarreta redução da atividade dessa enzima [7].

Os processos chaves da eficiência de utilização do nitrogênio em termos da produtividade das plantas são: absorção de nitrato, e redução assimilatória de nitrato e assimilação de amônia [8]. Desses processos, a redução de nitrato, através de redutase de nitrato, representa o principal ponto de controle quando a fonte externa é o nitrato, enquanto que a atividade de glutamina sintetase representa o mais importante passo de controle da assimilação de amônia até aminoácidos conforme Lea [8]. Esses processos do metabolismo do nitrogênio são fortemente interdependentes e estão sob forte regulação metabólica por fatores endógenos e fatores exógenos.

O estresse hídrico provoca reduções drásticas na atividade de redutase de nitrato já a partir de pequenos decréscimos no potencial da água [6], porém os mecanismos moleculares não são totalmente conhecidos [5]. O trabalho teve como objetivo de verificar o comportamento da atividade da redutase do nitrato em plantas de teca submetidas ao estresse hídrico.

## Material e métodos

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA). As mudas de teca (*Tectona grandis* L. f.) proveniente de sementes oriundas de Rondônia-RO e Paragominas-PA, foram fornecidas pela AIMEX quando tinham seis meses de idade. Foram acondicionadas em vasos plásticos com capacidade para 10 litros, contendo terra preta com textura arenosa. Antes do início dos tratamentos todas as plantas foram colocadas sob sombrite 50%, irrigadas diariamente, recebendo macro e micronutrientes, na forma de solução

1. Bolsista de Iniciação Científica PIBIC/UFRA, UFRA, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, PA, Brasil.

E-mail: neto.fsvegetal@hotmail.com

2. Graduando de Engenharia Florestal, UFRA, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, PA, Brasil.

3. Mestrando em Biologia Vegetal Tropical, UFRA, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, PA, Brasil.

4. Professor e pesquisador da UFRA, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, PA, Brasil.

nutritiva de Hoagland & Arnon [9] modificada no laboratório de Fisiologia Vegetal da UFRA. A intensidade luminosa dentro da casa de vegetação, medida por um Luxímetro portátil LD-206 Light Meter, foi 25% da luz solar total.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em fatorial 2 x 4 (condições hídricas x ciclos de estresse), onde nas condições hídricas tivemos 2 tratamentos, plantas controle (irrigada diariamente) e plantas submetidas ao estresse hídrico (com suspensão completa de água), com 5 repetições, totalizando 40 parcelas. Foram realizadas 4 coletas destrutivas para cada leitura (0, 3, 6 e 9 dias), nestes dias as plantas foram levadas para o laboratório de Fisiologia Vegetal da UFRA, no qual executou-se as determinações da atividade de redutase de nitrato nas folhas foi feito com o auxílio de um furador de rolhas retire discos foliares 0,5 cm<sup>2</sup> de diâmetro e em seguida, pese aproximadamente 200 mg dos discos foliares. Transfira para tubos de ensaio para vácuo contendo 5,0 mL do tampão fosfato (meio de reação) e em seguida fazer vácuo por 2 minutos após, colocar os tubos de ensaio em “banho-maria” à 30°C por 30 minutos e ao abrigo da luz (escuro). Em tubo de ensaio comum, adicionar 2,0 mL de tampão + 1,0 mL do extrato de reação +1,0 mL de sulfanilamida 1% + 1,0 mL de NNEDA 0,02%. Deixar em repouso por 15 minutos. Fazer a leitura no espectrofotômetro à 540nm contra o branco (3,0mL de tampão fosfato + 1,0 mL de sulfanilamida + 1,0 mL de NNEDA). Comparar absorbância com a curva padrão de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (nitrito) e expressar a atividade da enzima em  $\mu\text{moles de NO}_2^- \cdot \text{gMF}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ , através do método “*in vivo*” descrito por Hangeman & Hucklesby [10]. As médias dos tratamentos foram comparadas através do desvio padrão da média segundo Gomes [11].

## Resultados e Discussão

Os resultados mostraram que a atividade da enzima redutase do nitrato em folhas de teca diminuíram drasticamente após os três primeiros dias de estresse hídrico, foi observado ao longo do experimento, um decréscimo de 98,45% na atividade desta enzima, quando as plantas foram submetidas a nove dias de déficit hídrico, quando comparadas com as plantas controles (Figura 1). Estes resultados sugerem que o estresse hídrico diminui a atividade dessa enzima em virtude da diminuição do fluxo de água pela corrente transpiratória e com isso também o fluxo de nitrato para as folhas, uma vez que essa enzima é altamente dependente de seu substrato, Sharnner & Boyer [12].

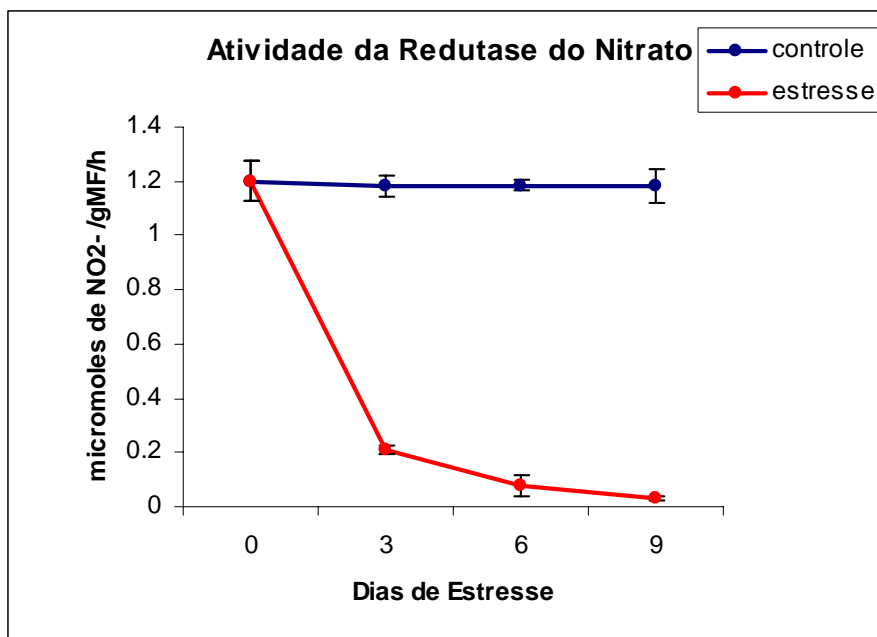
A interação nitrogênio versus condição hídrica do solo é importante porque esse nutriente frequentemente limita o crescimento das plantas cultivadas em ambientes de pouca pluviosidade. Além disso, existem evidências que o N e a disponibilidade de água no solo limitam o crescimento, dentre outros fatores [13].

A limitação na aquisição e assimilação do nitrogênio, mostrou neste trabalho que a falta de água em plantas de teca, limita a atividade desta enzima, portanto a inibição da atividade da enzima redutase de nitrato, vai prejudicar toda a rota metabólica, e como consequência o seu

comportamento bioquímico [13]. A inibição ou a diminuição desta enzima, ira diminuir a formação dos aminoácidos, proteínas e clorofilas, prejudicando assim o seu crescimento e desenvolvimento da planta, pois ela é primeira enzima na rota de assimilação de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> [14].

## Referências

- [1] KEIDING, H. Teak. 1985. *Tectona Grandis* Linn. f. Humiebaek, Denmark: *Danida Forest Seed Centre*, 21 p. (Seed Leaflet, 4).
- [2] KAOSA-ARD, A. 1986. Teak (*Tectona grandis* Linn. f.), nursery techniques, with special reference to Thailand. Humiebaek, Denmark: *Danida Forest Seed Centre*, 42 p. (Seed Leaflet, 4A), 42 p.
- [3] NIU, X. ; BRESSAN, R. A. ; HASEGAWA, P. M. & PARDO, J. M. 1995. Ion Homeostasis in NaCl Stress Environments. *Plant Physiology*, 109:735-742.
- [4] INGRAM, J & BARTELS, D. 1996. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annual Review plant Physiology and plant Molecular Biology* 47: 377-403.
- [5] SINHA, S. K. & NICHOLAS, D. J. D. 1981. *Nitrate Reductase. In the physiology e biochemistry of drought resistance in plants.* EDS. L. G. Palez and D. Aspinall. Academic Press, Sydney. pp 145-169,.
- [6] COSTA, R.C.L. da. 1999. *Assimilação de nitrogênio e ajustamento osmótico em plantas noduladas de feijão-de-corda (Vigna unguiculata (L.) Walp submetidas ao estresse hídrico,* Tese de Doutorado, Fortaleza/CE.
- [7] TAIZ, L.; ZEIGER, E. 2004. *Fisiologia vegetal.* Trad. SANTARÉM, E. R...[et al.]. – 3.ed. –Porto Alegre: Artmed,.
- [8] LEA, P. J., AL-SULAITI, A., PALMER. 1992. Absorção e metabolismo de nitrogênio sob estresse hídrico. *In: Simpósio Internacional sobre Estresse Ambiental: O MILHO EM PERSPECTIVA*, Belo Horizonte *Resumos...*Belo Horizonte: EMBRAPA-CNPMS. P.26-27.
- [9] HOAGLAND, D. R. & ARNON. D. I. 1950. The water culture method for growing plants without soil. *Calif. Agric. Exp. Stn. Univ. Calif. Berkeley Circ.* 347:139.
- [10] HAGEMAN, R. H. G.; HUCKLESBY, D. P. 1949 Nitrate reductase from higher plants. *In: METHODS IN ENZIMOLGY*, 17 A: 497-505,.
- [11] GOMES, F. P. 2000. *Curso de estatística experimental.* 14° ed. Piracicaba: USP, 477p.
- [12] SHARNNER, DL & BOYER, JS 1976b. Nitrate reductase activity in maize (*Zea mays L.*) leaves. II. Regulation by nitrate flux at low leaf water potential. *Plant Physiol.* 58: 505-509.
- [13] KERBAUY, B. G. , 2004. *Fisiologia vegetal.* ed. Guanabara koogan S.A .RJ..
- [14] KRISHNA, R.; GNANAM, A. 1990. Inhibition of nitrate and nitrite reductase activities by salinity in *Sorghum vulgare*, *Phytochemistry*, v. 29, p. 1047-1049.



**Figura 1.** Atividade “*in vivo*” da redutase do nitrato em discos de folhas de Teca (*Tectona grandis* L. f.) submetidas à desidratação progressiva (seca) durante 9 dias. As barras representam o desvio padrão.