



Pesquisa Agropecuária Tropical

ISSN: 1517-6398

pat@agro.ufg.br

Escola de Agronomia e Engenharia de

Alimentos

Brasil

Gonçalves da Rocha, Janiélio; Martins Ferreira, Leandro; Huertas Tavares, Orlando Carlos; Marques dos Santos, André; de Souza, Sonia Regina

Cinética de absorção de nitrogênio e acúmulo de frações solúveis nitrogenadas e açúcares em girassol

Pesquisa Agropecuária Tropical, vol. 44, núm. 4, octubre-diciembre, 2014, pp. 381-390

Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos

Goiânia, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=253032707006>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

Cinética de absorção de nitrogênio e acúmulo de frações solúveis nitrogenadas e açúcares em girassol¹

Janiélio Gonçalves da Rocha², Leandro Martins Ferreira²,
Orlando Carlos Huertas Tavares², André Marques dos Santos³, Sonia Regina de Souza³

ABSTRACT

Nitrogen absorption kinetics and accumulation of soluble nitrogenous fractions and sugars in sunflower

Sunflower (*Helianthus annuus* L.) has emerged as a promising crop among oilseed species with agro-energetic importance. Considering the nutrients required by the sunflower crop, nitrogen is the most limiting for yield, besides affecting its oil production. This study aimed to evaluate metabolism aspects and nitrogen absorption kinetics (nitrate and ammonium), in sunflower (BRS 324) grown under different levels of this nutrient in nutritive solution, under controlled conditions, in a growth chamber. Plants were submitted to two nitrogen concentrations (0.2 mmol L⁻¹ and 2.0 mmol L⁻¹ of N-NH₄⁺ or N-NO₃⁻), in a completely randomized experimental design. The kinetics absorption parameters (K_m and V_{max}), fresh weight and accumulation of soluble nitrogen fractions and sugars were evaluated. Plants grown in 2.0 mmol L⁻¹ of N-NH₄⁺ showed a higher V_{max} , indicating a greater capacity for transporting this ion. The stem presented a preferential accumulation of N-NO₃⁻ and soluble sugars, acting as the main site of energetic reserve of the plant. Treatments with NH₄⁺ showed negative correlations between fresh weight and amount of this compound in the plant tissue, which may be responsible for symptoms of toxicity, resulting in a reduction in the root/shoot ratio.

KEY-WORDS: *Helianthus annuus* L.; ammonium; nitrogen metabolism; nitrate.

RESUMO

O girassol (*Helianthus annuus* L.) tem se destacado como cultura promissora, dentre as oleaginosas com importância agroenergética. Considerando-se os nutrientes exigidos pela cultura do girassol, o nitrogênio é o que mais limita a produção, além de afetar seu rendimento de óleo. Este trabalho objetivou avaliar aspectos do metabolismo e a cinética de absorção de nitrogênio (nítrico e amoniácal) na variedade de girassol BRS 324, cultivada em diferentes concentrações desse nutriente, em solução nutritiva, sob condições controladas, em câmara de crescimento. As plantas receberam 0,2 mmol L⁻¹ e 2,0 mmol L⁻¹ de N-NH₄⁺ ou N-NO₃⁻, em delineamento experimental inteiramente casualizado. Foram avaliados os parâmetros cinéticos de absorção (K_m e V_{max}), massa fresca, acúmulo de frações solúveis nitrogenadas e açúcares. Plantas cultivadas em 2,0 mmol L⁻¹ de N-NH₄⁺ apresentaram maior V_{max} , indicando maior capacidade de transporte desse íon. O caule apresentou acúmulo preferencial de NO₃⁻ e açúcares solúveis, atuando como principal local de reserva energética da planta. Os tratamentos com NH₄⁺ resultaram em correlações negativas entre a massa fresca e a quantidade desse composto no tecido vegetal, o que pode ser responsável por sintomas de toxidez, resultando em redução na relação raiz/parte aérea.

PALAVRAS-CHAVE: *Helianthus annuus* L.; amônio; metabolismo de nitrogênio; nitrato.

INTRODUÇÃO

O girassol (*Helianthus annuus* L.) tem sido cultivado nos cinco continentes, alcançando área de, aproximadamente, 23 milhões de hectares (Freitas 2012), apresentando produção mundial estimada, para a safra 2012/2013, de 37,6 milhões de toneladas, sendo a Ucrânia o maior produtor (24%), seguida pelos EUA (22%) e Rússia (19%) (Conab 2012).

No Brasil, o cultivo de girassol também vem ganhando destaque. Na safra 2011/2012, foram cultivados 74,6 mil hectares, e o Estado do Mato Grosso contribuiu com 62,4% da área plantada, seguido pelo Estado de Goiás, com 29,7% (Conab 2012, Brasil 2012). Portanto, as últimas estimativas de safra feitas pela Conab (2012) mostram que a região Centro-Oeste é a campeã de produtividade, acumulando mais de 90% da produção brasileira.

1. Trabalho recebido em out./2013 e aceito para publicação em out./2014 (nº registro: PAT 26949).
2. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Seropédica, RJ, Brasil. E-mails: janieliogr@yahoo.com.br, leandroctur@hotmail.com, ochtavares@gmail.com.
3. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Seropédica, RJ, Brasil. E-mails: amarques.ufrrj@gmail.com, soniabq@ufrrj.br.

Dentre os nutrientes exigidos pela cultura, o nitrogênio (N) é o que mais limita a produção, desempenhando importante função no metabolismo e nutrição do girassol. A deficiência de N causa desordem nutricional e, consequentemente, redução na produtividade, enquanto seu excesso ocasiona decréscimo na percentagem de óleo, favorecendo também a incidência de pragas e doenças (Smiderle et al. 2005).

Castro et al. (1999), estudando doses e métodos de aplicação de nitrogênio em girassol, concluíram que a dose econômica para a produção de grãos foi de 17,5 kg ha⁻¹ de N. Estudos ainda têm indicado que a adubação nitrogenada em cobertura, na cultura do girassol, resulta em acréscimo na produção (Biscaro et al. 2008). Fagundes et al. (2007) concluíram que a fonte de nitrogênio tem influência sobre a área foliar do girassol, sendo a ureia recomendável para o maior crescimento das folhas.

O N está disponível no solo em diversas formas, incluindo amônio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-), aminoácidos, peptídeos solúveis e formas complexas insolúveis (Williams & Miller 2001). As espécies de plantas diferem na sua preferência por fontes de N, absorvendo-o primariamente em formas inorgânicas, como NO_3^- e NH_4^+ , via sistema radicular (Williams & Miller 2001). A absorção das formas amoniácais e nítricas provoca diferentes efeitos no crescimento, vigor, produção de biomassa e reprodução da planta (Lane & Bassirirad 2002).

O processo de absorção de nitrato pelas plantas ocorre com sua translocação pela membrana plasmática, via simporte com dois prótons, enquanto o amônio segue através dessa membrana, por um sistema de transporte caracterizado como uniporte (Souza & Fernandes 2006, Crawford & Glass 1998). Assim, em concentração de 1,0 mmol L⁻¹ de NH_4^+ ou NO_3^- , as proteínas transportadoras desses íons podem ter maior ou menor afinidade, durante o processo de absorção, sendo denominado de HATS (high affinity transport system - sistema de transporte de alta afinidade), quando a concentração desse nutriente está abaixo de 1,0 mmol L⁻¹, e LATS (low affinity transport system - sistema de transporte de baixa afinidade), quando a concentração está acima de 1,0 mmol L⁻¹ (Dechognat et al. 2011).

De modo geral, a forma amoniácal é preferencialmente absorvida no início do desenvolvimento das plantas, sendo a forma nítrica mais absorvida à medida em que vai avançando o ciclo vegetativo

(Brown et al. 1983a e 1983b, Blackmer 2000). A assimilação de amônio em compostos nitrogenados consome menos energia que a assimilação de nitrato (Taiz & Zeiger 2013). Por outro lado, outros estudos não constataram qualquer preferência na absorção de formas nitrogenadas, em diversas espécies e cultivares vegetais (Causin et al. 1992, Magalhães et al. 1995, Yin & Raven 1998).

A absorção exclusiva de amônio provoca diminuição no crescimento de algumas culturas, devido à utilização de carboidratos produzidos para a rápida assimilação do NH_4^+ absorvido, a fim de evitar seu acúmulo e consequente toxidez, o que levaria a alterações no pH celular e desbalanço iônico e hormonal (Britto & Kronzucker 2002, Taiz & Zeiger 2013). Em girassol, efeito similar foi observado, sendo que a aplicação de N na forma amoniácal provocou redução na produção de massa seca da planta, em comparação ao fornecimento de N na forma nítrica (Silva et al. 2010).

Segundo Schenk (1996) e Lane & Bassirirad (2002), os responsáveis pela absorção preferencial de formas nitrogenadas pelas plantas são fatores intrínsecos às espécies vegetais, como processo fotossintético, estádio de crescimento e participação na formação de biomassa. O conhecimento da cinética de absorção de N serve de informação básica para a definição do manejo da adubação nitrogenada na cultura, permitindo maior racionalização na sua utilização e reduzindo custos com ganhos de produtividade.

A velocidade máxima (V_{max}) representa o máximo de transporte possível de um nutriente, quando todos os transportadores estão carregados. A constante de Michaelis-Menten (K_m) representa a concentração de determinado nutriente necessária para que a absorção atinja metade de sua V_{max} . Assim, quanto maior o valor de V_{max} , maior será a velocidade da planta em absorver o nutriente do solo e, quanto menor o valor de K_m , maior a afinidade do transportador pelo nutriente do solo.

A situação desejável, do ponto de vista de adaptabilidade da planta a condições de escassez de nutrientes, seria um genótipo com elevados valores de V_{max} , associados a baixos valores de K_m , sugerindo maior capacidade de absorção de N em condições de menor disponibilidade, indicando maior eficiência de uso de N para o mesmo.

Este estudo objetivou avaliar alguns aspectos do metabolismo do N e a cinética de absorção de nitrogênio nítrico e amoniácal, na variedade de girassol

BRS 324 cultivada em dois níveis desse nutriente, em solução nutritiva.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em câmara de crescimento, no Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), em sistema hidropônico, com aeração de 15 minutos a cada hora. As condições para o cultivo foram: fotoperíodo de 14 horas/10 horas (luz/escuro), com luminosidade de 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (fluxo de fótons fotossintéticos), umidade relativa do ar de 70% e temperatura de 28°C/24°C (diurna/noturna).

As sementes do genótipo BRS 324 utilizadas no ensaio, desenvolvidas pela Embrapa Soja, foram desinfestadas sob agitação em água destilada, por 15 minutos, e, em seguida, em etanol (70%), durante 1 minuto, e em solução de hipoclorito de sódio (2%), por 15 minutos. Após a lavagem das sementes, a sementeira foi realizada em areia lavada e autoclavada, em 25/10/2011.

Oito dias após a germinação (DAG), três plantas foram transferidas para vasos com capacidade de 1.950 mL, contendo solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950) modificada, com 2,0 mmol L⁻¹ de N (1,5 mmol L⁻¹ de NO₃⁻ e 0,5 mmol L⁻¹ de NH₄⁺) a $\frac{1}{4}$ da força iônica. A troca da solução nutritiva ocorreu em intervalos de três dias, sendo que, a partir da terceira troca, foi utilizada solução nutritiva a $\frac{1}{2}$ da força iônica. Na quarta troca, foi colocada solução nutritiva sem nitrogênio, a fim de promover uma “fome de N” e aumentar a capacidade de absorção das plantas. Após esse período de privação de N, aos 20 DAG, foi realizado o ressuprimento de N, com os seguintes tratamentos: 0,2 mmol L⁻¹ e 2,0 mmol L⁻¹ de NH₄⁺ e 0,2 mmol L⁻¹ e 2,0 mmol L⁻¹ de NO₃⁻, com quatro repetições, representadas por um vaso contendo três plantas, em delineamento inteiramente casualizado.

Foram coletadas alíquotas de 1 mL de solução nutritiva a cada meia hora, até 24 horas, para as concentrações de 0,2 mmol L⁻¹ de N, e a cada uma hora, até 48 horas, para as de 2,0 mmol L⁻¹ de N, excluindo-se o período noturno. O teor de nitrato das amostras foi determinado utilizando-se metodologia de Cataldo et al. (1975) e o de amônio segundo Felker (1977). Durante a coleta, o pH das soluções foi monitorado a cada 4 horas.

As plantas foram coletadas ao final do experimento (24 horas ou 48 horas após a supressão de

nitrogênio) e separadas em raízes, caules e folhas. Foi determinada a massa fresca de cada parte da planta, sendo 1,0 g de material fresco armazenado em etanol (80%) e, após a extração alcoólica, foi feita a partição com clorofórmio (Fernandes 1984). A fração solúvel obtida foi utilizada para as determinações de N-amino livre (Yemm & Cocking 1955), N-NH₄⁺ (Felker 1977), N-NO₃⁻ (Cataldo et al. 1975) e açúcares solúveis (Yemm & Willis 1954).

Os parâmetros cinéticos da absorção (V_{max} e K_m) para N-NO₃⁻ e N-NH₄⁺ foram determinados a partir da diminuição na concentração desses íons na solução nutritiva, em função do tempo (Claassen & Barber 1974). As curvas de depleção desses nutrientes e os cálculos dos parâmetros cinéticos foram realizados por meio de método gráfico matemático desenvolvido por Ruiz (1985) e Cometti et al. (2006), utilizando-se o programa Cineticawin 1.0 (UFV).

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa Sisvar (Ferreira 2011), e as médias comparadas pelo Teste Tukey ($\alpha = 0,05$) (Pimentel-Gomes 2000). Para a análise de correlação entre as variáveis analisadas, foi utilizado o programa XLSTAT/Excel®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A absorção diferenciada de cátions e ânions contribuiu para as alterações no pH da solução nutritiva (Figura 1).

A partir da concentração do nutriente em solução, a cada tempo de coleta, foram construídas curvas de depleção para os tratamentos estudados (0,2 mmol L⁻¹ e 2,0 mmol L⁻¹ de N-NH₄⁺ e N-NO₃⁻). Nos tratamentos com 0,2 mmol L⁻¹ de NO₃⁻ ou NH₄⁺ (Figura 1), ocorreu esgotamento quase completo do N em solução, nas primeiras 5 horas, enquanto, nos tratamentos com 2,0 mmol L⁻¹, isso ocorreu por volta de 30 horas. Matt et al. (2001), trabalhando com plantas de tabaco, constataram que a absorção de nitrato, durante o dia, é significativamente maior que a absorção durante a noite, o que justifica as coletas apenas durante o período diurno, no presente estudo.

Nas primeiras duas horas do experimento, foi observada elevação do pH, no tratamento com 0,2 mmol L⁻¹ de nitrato. No entanto, depois de cerca de 5 horas do início do experimento, após o esgotamento do nitrato da solução, o pH se reduziu. O mesmo comportamento foi observado para a concentração de 2 mmol L⁻¹ de nitrato, com redução

no pH próxima ao período de 30 horas, após aplicar o tratamento, mantendo-se correspondência com o tempo, na curva de depleção (Figura 1).

Essa redução pode ter ocorrido devido à absorção diferenciada de cátions e ânions, que provoca variações de pH em solução nutritiva (Forde & Clarkson 1999, Souza & Fernandes 2006, Silva et al. 2010). A redução do pH na solução nutritiva das plantas cultivadas com nitrito, após o período inicial de

absorção, está diretamente relacionada à diminuição dos níveis desse nutriente em solução. O aumento na absorção de outros nutrientes catiônicos pode ter sido responsável pela redução do pH, a fim de manter um equilíbrio de cargas nas células.

Para os tratamentos com $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ e $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de NH_4^+ , houve maior queda nos valores de pH, nas primeiras horas em que as plantas foram expostas a esses tratamentos, e, posteriormente, uma

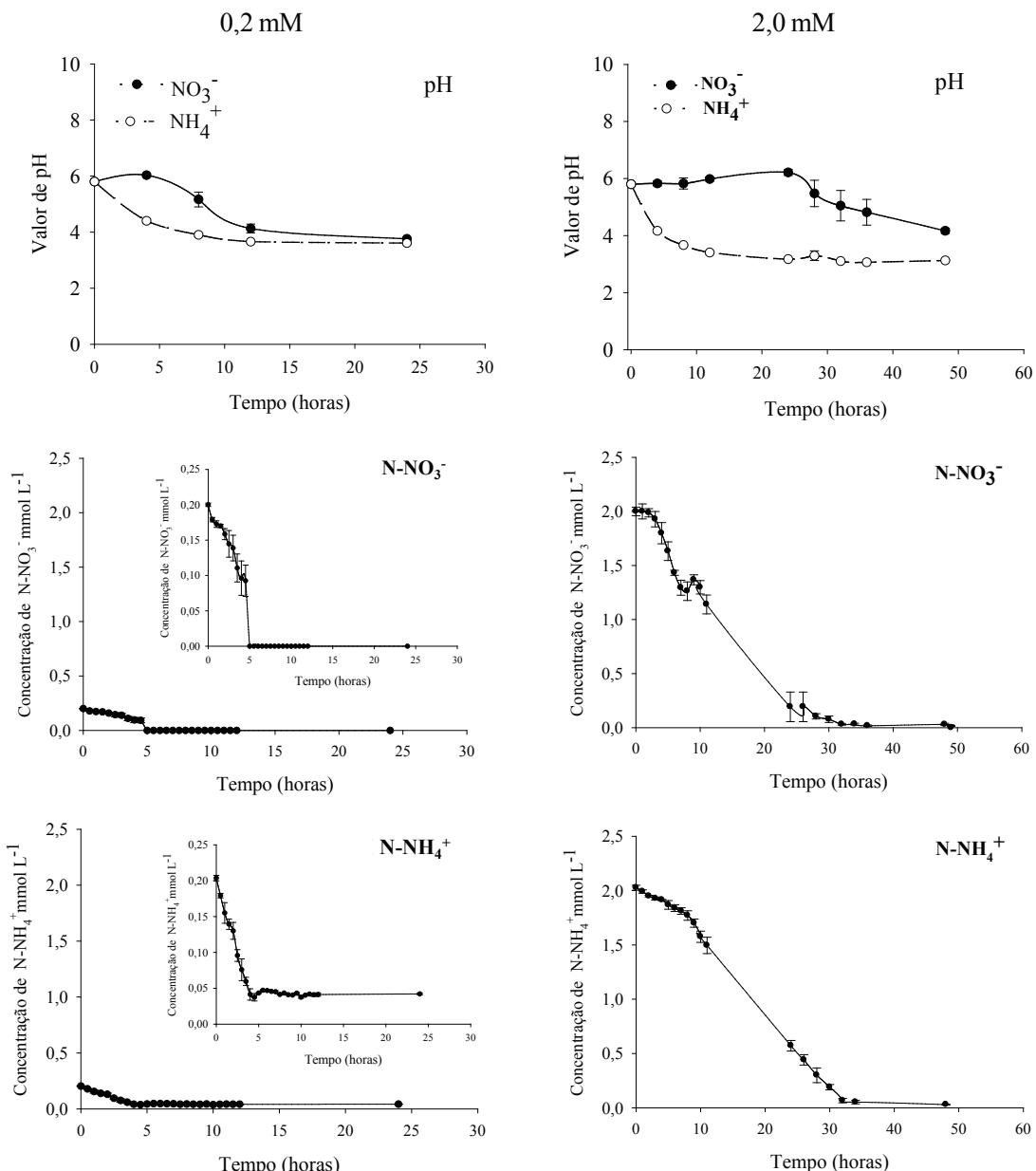


Figura 1. pH e depleção de nitrito e amônio, na solução nutritiva de cultivo de plantas de girassol (BRS 324) suprida com $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ e $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de N-NO_3^- ou N-NH_4^+ (Rio de Janeiro, RJ, 2011). As barras verticais representam o erro padrão da média de quatro repetições e as figuras menores sobrepostas a ampliação da figura na qual está contida, para melhor visualização da escala (concentração de N-NO_3^- e N-NH_4^+).

estabilização em pH ligeiramente ácido (Figura 1). Silva et al. (2010) também observaram redução no pH da solução nutritiva, quando a fonte de N era amoniacial, com reduções da ordem de 25%, em relação ao pH inicial, causando indisponibilidade de alguns nutrientes, como N, P, K, Ca e Mg, essenciais ao desenvolvimento da cultura do girassol. Como expresso anteriormente, a absorção de NH_4^+ é acompanhada pelo bombeamento de H^+ para o exterior da célula (Forde & Clarkson 1999, Souza & Fernandes 2006), causando, consequentemente, a redução do pH na solução nutritiva.

O pH na solução nutritiva chegou a 4,0, quando as plantas foram cultivadas com 0,2 mmol L⁻¹ e 2,0 mmol L⁻¹ de NH_4^+ (Figura 1), podendo ter ocorrido influência negativa na absorção de nutrientes pelas plantas de girassol, a qual se manifestou no menor crescimento do sistema radicular, e redução na relação raiz/parte aérea (Tabela 1). As plantas podem suportar perfeitamente pH entre 4,5 e 7,5, sem grandes efeitos fisiológicos (Bugbee 1995, Epstein & Bloom 2004), no entanto, em uma cultura hidropônica, é recomendado pH entre 5,5 e 5,8, para permitir a máxima disponibilidade de nutrientes em geral (Bugbee 1995).

Altas concentrações de H^+ em solução nutritiva podem desestabilizar as membranas celulares, provocando perda de íons e morte das células das raízes (Britto & Kronzucker 2002). Além disso, a redução do pH da solução nutritiva pode comprometer seriamente o crescimento da planta, devido a efeitos indiretos, como, por exemplo, redução na disponibilidade de nutrientes, devido à formação de espécies iônicas que não são prontamente absorvidas pelas raízes (Britto & Kronzucker 2002), e de complexos insolúveis (Bugbee 1995).

A absorção de NO_3^- ocorre por um processo ativo secundário, no qual 1,0 mol de NO_3^- é absorvido em cotransporte com 2,0 moles de H^+ (simpórtio). Por outro lado, a absorção de NH_4^+ ocorre por uniporte e, para a manutenção do equilíbrio de cargas, uma quantidade proporcional de H^+ sofre extrusão pelas bombas de prótons. Assim, enquanto a absorção de NO_3^- promove aumento do pH externo, a absorção de NH_4^+ o reduz (Cometti et al. 2006).

Não houve variação na produção de massa fresca das folhas, caule e raízes das plantas de girassol, em função das fontes de N de cada tratamento, com exceção do tratamento com 2,0 mmol L⁻¹ de NH_4^+ , em que houve redução na relação raiz/parte aérea (Tabela 1). Segundo Souza & Fernandes (2006), isso acontece devido ao fato de a assimilação de NH_4^+ ocorrer basicamente nas raízes, necessitando de elevadas quantidades de carboidratos, em detrimento do crescimento, a fim de evitar seus efeitos tóxicos (Taiz & Zeiger 2013). Da mesma forma, foi observada redução no comprimento e volume radicular, em plantas de girassol cultivadas exclusivamente com fonte de N amoniacial, quando comparado ao N nitrônico (Silva et al. 2010), indicando preferência de absorção pelo nitrato. Essa preferência de absorção de N na forma nitrônica também foi observada em feijão (Vale et al. 1998).

Os parâmetros cinéticos utilizados para a avaliação da absorção de nutrientes nas plantas foram: velocidade máxima (V_{max}) e constante de Michaelis-Menten (K_m). De maneira geral, não foram observadas grandes alterações nos valores de K_m e V_{max} , nos diferentes tratamentos utilizados (Tabela 1). Apenas no tratamento com 2,0 mmol L⁻¹ de N- NH_4^+ foi detectada tendência de menor valor de

Tabela 1. Massa fresca (g vaso⁻¹) de folhas, caules e raízes, relação raiz/parte aérea e parâmetros cinéticos (K_m e V_{max}) de absorção, para a variedade de girassol BRS 324, sob dois níveis de N- NO_3^- ou N- NH_4^+ (0,2 mmol L⁻¹ e 2,0 mmol L⁻¹), em solução nutritiva, 24 horas ou 48 horas após a supressão de nitrogênio (Rio de Janeiro, RJ, 2011).

	Massa fresca (g vaso ⁻¹)			Raiz/Parte aérea	Parâmetros cinéticos	
	Folha	Caule	Raiz		K_m (μmol L ⁻¹)	V_{max} (μmol L ⁻¹ h ⁻¹)
<i>0,2 mmol L⁻¹</i>						
N- NO_3^-	26,29 a	10,57 a	29,69 a	0,80 a	92,92 a	78,96 a
N- NH_4^+	26,22 a	12,36 a	30,32 a	0,78 a	110,61 a	78,99 a
CV%	7,91	10,17	21,13	23,70	35,93	32,37
<i>2,0 mmol L⁻¹</i>						
N- NO_3^-	29,51 a	11,07 a	38,74 a	0,94 a	258,16 a	75,39 b
N- NH_4^+	28,62 a	12,28 a	27,01 a	0,66 b	229,03 a	121,48 a
CV%	7,29	11,21	22,56	20,02	36,43	37,86

Médias seguidas da mesma letra minúscula, nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($\alpha = 0,05$).

K_m e aumento significativo na V_{max} , em comparação com o tratamento contendo 2,0 mmol L⁻¹ de N-NO₃⁻. Esse resultado sugere maior eficiência de absorção de amônio em altas doses desse íon. No entanto, como discutido anteriormente, um alto suprimento de N-NH₄⁺ pode afetar o crescimento do sistema radicular das plantas, comprometendo o seu desenvolvimento. O amônio atua dissipando os gradientes de prótons transmembrana necessários ao transporte de elétrons, na fotossíntese e na respiração, assim como para a captura de metabólitos nos vacúolos (Taiz & Zeiger 2013).

As plantas de girassol apresentaram maiores teores de nitrato no caule do que nas outras partes da planta, indicando ser o caule o local de reserva ou de translocação das raízes para as folhas (Figura 2). Esses resultados mostram que o caule tem uma provável função de armazenamento de nutrientes, em plantas de girassol. Da mesma forma, Brito et al. (2013), trabalhando com plantas de crambe (*Crambe abyssinica* Hochst. ex. R.E. Fries), em sistema hidropônico, observaram que o caule apresentou maiores concentrações de nitrato. Segundo Crawford (1995), várias espécies vegetais apresentaram resultados semelhantes, evi-

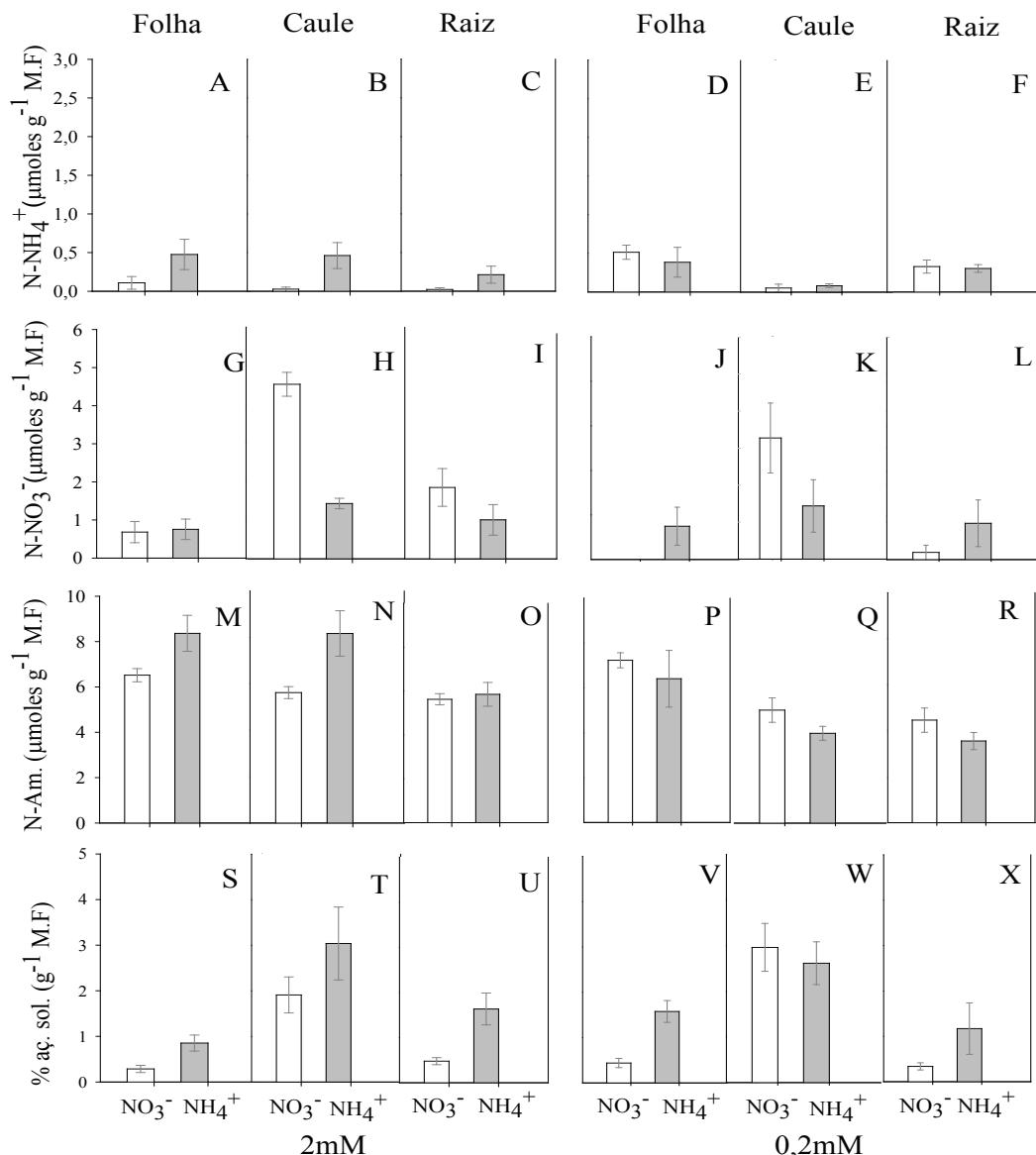


Figura 2. Teores de N-NH₄⁺, N-NO₃⁻, N-Amino e percentagem (Dag kg⁻¹) de açúcares solúveis nas folhas (A, D, G, J, M, P, SV), caule (B, E H, K, N, Q, T, W) e raízes (C F, I, L, O, R, U, X) de plantas de girassol BRS 324, cultivadas em solução nutritiva com 0,2 mmol L⁻¹ e 2,0 mmol L⁻¹ de N-NO₃⁻ ou N-NH₄⁺ (Rio de Janeiro, RJ, 2011).

denciando mecanismo adaptativo que permite utilizar a reserva de nitrato para os processos metabólicos, mesmo em baixa disponibilidade do ânion.

Embora, nos tratamentos com 0,2 mmol L⁻¹ e 2,0 mmol L⁻¹ de NH₄⁺ não tenha sido adicionado nitrato durante as avaliações, no tecido vegetal, houve acúmulo de nitrato nas folhas, caules e raízes. Esse resultado pode ser explicado pelo fato de que, antes da aplicação dos tratamentos, as plantas estavam sendo cultivadas em solução nutritiva contendo 1,5 mmol L⁻¹ de nitrato e 0,5 mmol L⁻¹ de amônio, o que pode ter levado ao acúmulo temporário de nitrato nos vacúolos. No tratamento com 2,0 mmol L⁻¹ de NH₄⁺, após o ressuprimento, foi detectada maior quantidade de amônio e N-amino nas folhas e no caule (Figura 2). Também foi observado maior acúmulo de açúcares solúveis no caule, nas plantas cultivadas, independentemente da fonte de N utilizada (Figura 2).

A maior capacidade de absorção de N na forma amoniacal pode explicar esses resultados, o que se mostraria como uma vantagem, em termos fisiológicos, já que os teores de açúcares solúveis nos vegetais são indicadores de energia prontamente disponível para o metabolismo celular. Além de fonte de energia, os açúcares solúveis são fontes de esqueletos de carbono utilizados na síntese de ácidos

orgânicos, para assimilação do nitrogênio absorvido (Souza et al. 1999).

Houve correlação positiva entre os teores de N-NH₄⁺ e N-amino, na concentração de 0,2 mmol L⁻¹ na folha, enquanto, no tratamento com de 2,0 mmol L⁻¹, a correlação positiva foi encontrada no caule (Tabela 2). Raramente encontram-se valores elevados de N-NH₄⁺ nos tecidos vegetais, devido à sua rápida assimilação, pois altas concentrações desse íon nos tecidos podem provocar sintomas de toxidez na planta. Segundo Taiz & Zeiger (2013), as plantas assimilam amônio próximo da região de absorção ou produção e rapidamente armazenam todo o excesso nos vacúolos, evitando, assim, efeitos tóxicos nas membranas e citossol. Elevados níveis de NH₄⁺ favorecem a síntese das amidas asparagina e glutamina, que podem responder por mais de 80% do total de N-amino livre, causando aumento de 10 a 20 vezes na relação N-amino/N-amida livre, como resposta à toxidez por NH₄⁺ (Souza & Fernandes 2006).

O fornecimento de 2,0 mmol L⁻¹ de nitrato às plantas provocou diminuição nos teores de açúcares e apresentou correlação negativa com o N-amino do caule. No tratamento com 0,2 mmol L⁻¹ de NO₃⁻, os teores acumulados nos tecidos da folha e no caule mostraram correlação positiva com os teores de açúcares solúveis, e não foram significativos para

Tabela 2. Matriz de correlação (Pearson): frações solúveis quantificadas na folha, caule e raízes e massa fresca da folha, caule e raízes de plantas de girassol BRS 324, cultivadas em solução nutritiva com 0,2 mmol L⁻¹ e 2,0 mmol L⁻¹ de N-NO₃⁻ ou N-NH₄⁺ (Rio de Janeiro, RJ, 2011).

0,2 mmol L ⁻¹	MF R	NH ₄ ⁺ F	NH ₄ ⁺ C	NH ₄ ⁺ R	N-am F	N-am C	% aç C	% aç R
MF	R	1,00						
NH ₄ ⁺	F	0,12	1,00					
NH ₄ ⁺	C	0,61	-0,10	1,00				
NH ₄ ⁺	R	-0,89	-0,00	-0,81	1,00			
N-am	F	-0,00	0,72	-0,50	0,26	1,00		
N-am	C	-0,20	-0,10	0,24	0,00	0,02	1,00	
% aç	C	-0,20	0,25	-0,30	-0,00	0,07	-0,17	1,00
% aç	R	-0,20	0,19	-0,40	0,22	0,31	0,45	0,47
2,0 mmol L ⁻¹								
MF	R	1,00						
NH ₄ ⁺	F	-0,77	1,00					
NH ₄ ⁺	C	-0,60	0,44	1,00				
NH ₄ ⁺	R	-0,30	0,01	0,69	1,00			
N-am	F	-0,40	0,16	0,79	0,93	1,00		
N-am	C	-0,60	0,55	0,76	0,79	0,88	1,00	
% aç	C	-0,40	0,02	0,69	0,93	0,85	0,66	1,00
% aç	R	-0,50	0,38	0,73	0,86	0,92	0,97	0,69

Os valores em negrito são significativamente diferentes de 0, a 5%. MF = massa fresca da raiz (g); NH₄⁺ F = N-NH₄⁺ da folha μmol g⁻¹ MF; NH₄⁺ C = N-NH₄⁺ do caule μmol g⁻¹ MF; NH₄⁺ R = N-NH₄⁺ da raiz μmol g⁻¹ MF; N-am F = N-amino da folha μmol g⁻¹ MF; N-am C = N-amino do caule μmol g⁻¹ MF; aç C = % de açúcares solúveis do caule g⁻¹ MF; aç R = % de açúcares solúveis da raiz g⁻¹ MF.

N-amino. Conforme apresentado por Santos et al. (2005), o esgotamento do nitrato na solução nutritiva provavelmente ocasionou diminuição gradativa no conteúdo de N presente no *pool* de reserva da planta. Da mesma forma, esses dados poderiam justificar a correlação negativa encontrada neste estudo, no tratamento de maior concentração para esses tecidos vegetais analisados, em que as reservas de N certamente não estavam esgotadas.

Nos tratamentos com 0,2 mmol L⁻¹ e 2,0 mmol L⁻¹ de N-NH₄⁺, houve correlação negativa entre massa fresca da raiz e amônio aplicado (Tabela 2). Esse resultado pode ser explicado pela necessidade que as plantas têm de utilizar os esqueletos de carbono, ou seja, os carboidratos prontamente assimiláveis (açúcares solúveis) originados da parte aérea ou raízes, no processo de assimilação do amônio, com a finalidade de evitar o acúmulo desse íon em níveis tóxicos para a planta. Assim, a energia gasta pela planta na assimilação do amônio não contribui para o desenvolvimento do sistema radicular. Esse resultado é confirmado no tratamento com 2,0 mmol L⁻¹ de NH₄⁺, em que foi verificada correlação significativa e positiva entre a quantidade de amônio e açúcares solúveis nas raízes.

Desse modo, o fornecimento de nitrogênio amoniacal provocou redução na relação raiz/parte aérea, resultando em menor crescimento do sistema radicular e aparecimento de sintomas de toxidez nas plantas de girassol da variedade BRS 324. Biscaro et al. (2008), avaliando a resposta da cultura do girassol irrigado à aplicação parcelada de diferentes doses de N, concluíram que esse é o nutriente que mais limita a produção dessa cultura, e seu excesso ocasiona decréscimo também na produção de óleo.

CONCLUSÕES

1. Em condições de maior concentração de amônio (2,0 mmol L⁻¹), ocorreu maior condição de transporte de N.
2. O maior acúmulo de NO₃⁻ e açúcares solúveis ocorreu, preferencialmente, no caule da planta de girassol.
3. O suprimento somente de amônio às plantas de girassol foi prejudicial à cultura, causando diminuição da relação raiz/parte aérea da planta.
4. Recomenda-se o suprimento de N na forma amoniacal apenas parcialmente, sendo a forma nítrica a mais adequada para o cultivo.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela bolsa de mestrado concedida ao primeiro autor, e à Petrobras Biocombustível (Petro Bio Girassol), pelo financiamento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

- BISCARO, G. A. et al. Adubação nitrogenada em cobertura no girassol irrigado nas condições de Cassilândia - MS. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1366-1373, 2008.
- BLACKMER, A. M. Soil fertility and plant nutrition: bioavailability of nitrogen. In: SUMMER, M. E. (Ed.). *Handbook of soil science*. New York: CRC Press, 2000. p. D3-D18.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Política agrícola brasileira para a triticultura e demais culturas de inverno*. Brasília, DF: MAPA/Secretaria de Política Agrícola, 2012.
- BRITO, D. M. C. et al. Effects of nitrate supply on plant growth, nitrogen, phosphorus and potassium accumulation, and the nitrate reductase in Crambe. *Journal of Plant Nutrition*, New York, v. 36, n. 2, p. 275-283, 2013.
- BRITTO, D. T.; KRONZUCKER, H. J. NH₄⁺ toxicity in higher plants: a critical review. *Journal of Plant Physiology*, Stuttgart, v. 159, n. 6, p. 567-584, 2002.
- BROWN, R. H. et al. Photosynthesis of grass species differing in carbon dioxide fixation pathways: VII. Ultrastructural characteristic of panicum species in the laxa group. *Plant Physiology*, Rockville, v. 71, n. 2, p. 425-431, 1983a.
- BROWN, R. H.; RIGSBY, L. L.; AKIN, D. E. Enclosure of mitochondria by chloroplasts. *Plant Physiology*, Rockville, v. 71, n. 2, p. 437-439, 1983b.
- BUGBEE, B. Nutrient management in recirculating hydroponic culture. In: ANNUAL CONFERENCE ON HYDROPOONICS, 16., Tucson, 1995. *Proceedings...* Tucson: Hydroponic Society of America, 1995. p. 15-30.
- CAUSIN, H. F.; BARNEIX, A. J.; GUITMAN, M. R. Effect of long term NH₄⁺ nutrition on growth and yield of wheat plants. *Turrialba*, San José, v. 42, n. 4, p. 451-458, 1992.
- CASTRO, C. et al. Doses e métodos de aplicação de nitrogênio em girassol. *Sentia Agricola*, Piracicaba, v. 56, n. 4, p. 827-833, 1999.
- CATALDO, D. et al. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid.

- Communication in Soil Science and Plant Analysis*, New York, v. 6, n. 1, p. 853-855, 1975.
- CLAASSEN, N.; BARBER, S. A. A. Method for characterizing the relation between nutrient concentration and flux into roots of intact plants. *Plant Physiology*, Rockville, v. 54, n. 4, p. 564-568, 1974.
- COMETTI, N. N. et al. Soluções nutritivas: formulação e aplicações. In: FERNANDES, M. S. *Nutrição mineral de plantas*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 89-114.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (Conab). *Conjuntura mensal*. 2012. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 25 ago. 2012.
- CRAWFORD, N. M. Nitrate: nutrient and signal for plant growth. *The Plant Cell*, Rockville, v. 7, n. 7, p. 859-868, 1995.
- CRAWFORD, N. M.; GLASS, A. D. M. Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants. *Trends in Plant Science*, Oxford, v. 3, n. 10, p. 389-395, 1998.
- DECHORGNAT, J. et al. From the soil to the seeds: the long journey of nitrate in plants. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v. 62, n. 4, p. 1349-1359, 2011.
- EPSTEIN, E.; BLOOM, A. *Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas*. Londrina: Planta, 2004.
- FAGUNDES, J. D. et al. Crescimento, desenvolvimento e retardamento da senescência foliar em girassol de vaso (*Helianthus annuus* L.): fontes e doses de nitrogênio. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 37, n. 4, p. 987-993, 2007.
- FELKER, P. Microdetermination of nitrogen in seed protein extracts with the salicylate-dichloroisocyanurate color reaction. *Analytical Chemistry*, Washington, DC, v. 49, n. 7, p. 1080-1080, 1977.
- FERNANDES, M. S. N-carriers, light and temperature influences on uptake and assimilation of nitrogen by rice. *Turrialba*, San José, v. 34, n. 1, p. 9-18, 1984.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- FREITAS, G. A. de. *Análise econômica da cultura do girassol no Nordeste*. 2012. Disponível em: <http://www.bnb.gov.br/content/aplicacao/etene/etene/docs/ire_an06_n2.pdf>. Acesso em: 02 abr. 2013.
- FORDE, B. G.; CLARKSON, D. T. Nitrate and ammonium nutrition of plants: physiological and molecular perspectives. *Advances in Botanical Research*, London, v. 30, n. 1, p. 1-90, 1999.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station Bulletin*, Berkeley, v. 347, n. 1, p. 1-32, 1950.
- LANE, D. R.; BASSIRIRAD, H. Differential responses of tallgrass prairie species to nitrogen loading and varying ratios of NO_3^- to NH_4^+ . *Functional Plant Biology*, Victoria, v. 29, n. 10, p. 1227-1235, 2002.
- MAGALHÃES, J. R.; HUBER, D. M.; TSAI, C. Y. Influence of the form of nitrogen on ammonium, amino acids and N-assimilating enzyme activity in maize genotypes. *Journal of Plant Nutrition*, New York, v. 18, n. 9, p. 747-763, 1995.
- MATT, P. et al. The immediate cause of the diurnal changes of nitrogen metabolism in leaves of nitrate-replete tobacco: a major imbalance between the rate of nitrate reduction and the rates of nitrate uptake and ammonium metabolism during the first part of the light period. *Plant Cell and Environment*, Oxford, v. 24, n. 2, p. 170-190, 2001.
- PIMENTEL-GOMES, F. *Curso de estatística experimental*. 14. ed. Piracicaba: Edusp, 2000.
- RUIZ, H. A. Estimativas dos parâmetros cinéticos em K_m e V_{max} : por uma aproximação gráfico-matemática. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 79-84, 1985.
- SANTOS, L. A. et al. Metabolismo de nitrogênio em arroz sob níveis decrescentes de nitrito. *Agronomia*, Seropédica, v. 39, n. 1-2, p. 28-33, 2005.
- SCHENK, M. K. Regulation of nitrogen uptake on the whole plant level. *Plant and Soil*, Dordrecht, v. 181, n. 1, p. 131-137, 1996.
- SILVA, P. C. C.; COUTO, J. L.; SANTOS, A. R. Efeito dos íons amônio e nitrato no desenvolvimento do girassol em solução nutritiva. *Revista da FZVA*, Uruguaina, v. 17, n. 1, p. 104-114, 2010.
- SMIDERLE, O. J.; MOURÃO JÚNIOR, M.; GIANLUSSI, D. Avaliação de cultivares de girassol 412 em savana de Roraima. *Acta Amazonica*, Manaus, v. 35, n. 3, p. 331-336, 2005.
- SOUZA S. R.; FERNANDES, M. S. *Nutrição mineral de plantas*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006.
- SOUZA, S. R. et al. Effects of supplemental nitrogen on nitrogen-assimilation enzymes, free amino nitrogen, soluble sugars and crude protein of rice. *Communication Soil Science and Plant Analyses*, New York, v. 30, n. 5, p. 711-724, 1999.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.
- VALE, F. R. et al. Cultivo do feijoeiro em solução nutritiva sob proporções variáveis de amônio e nitrato. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v. 22, n. 1, p. 35-42, 1998.

- WILLIAMS, L. E.; MILLER, A. J. Transporters responsible for the uptake and partitioning of nitrogenous solutes. *Annual Review in Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Palo Alto, v. 52, n. 1, p. 659-688, 2001.
- YEMM, E. W.; COCKING, E. C. The determination of amino-acid with ninhydrin. *Analytical Biochemistry*, San Diego, v. 80, n. 1, p. 209-213, 1955.
- YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrate in plants extracts by anthrone. *Biochemistry*, Washington, DC, v. 57, n. 1, p. 508-514, 1954.
- YIN, Z. H.; RAVEN, J. A. Influence of different nitrogen sources and nitrogen and water use efficiency, and carbon isotope discrimination, in C3 *Triticum aestivum* L. and C4 *Zea mays* L. plants. *Planta*, Berlin, v. 205, n. 4, p. 574-580, 1998.