

ATIVIDADE ENZIMÁTICA E CONTEÚDO DE NITRATO EM PLANTAS DE ARROZ IRRIGADO CULTIVADAS SOB ELEVADO CO₂

VICTORIA NOVO SCHMITZ¹; STEFANIA NUNES PIRES²; RODRIGO DA SILVA ARMESTO³; ANGELITA CELENTE MARTINS⁴; LUCIANO DO AMARANTE⁵; SIDNEI DEUNER⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – victorianschmitz@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – stefanianunespires@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – rodrigossilvaarmesto@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – angel-celente@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – lucianodoamarante@yahoo.com.br

⁶Universidade Federal de Pelotas – sdeuner@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

O arroz é um dos cereais mais produzidos e consumidos no mundo, ficando atrás apenas do trigo e do milho (CONAB, 2017). A região Sul do Brasil é a principal produtora, com cerca de 70% do total produzido no País.

Desde a era industrial até os dias atuais, a concentração de CO₂ na atmosfera aumentou em média de 280 ppm para aproximadamente 400 ppm (NOAA, 2017). O metabolismo do carbono é uma rota fundamental, e sob condições de elevado CO₂, a assimilação de carbono e a eficiência do uso da água geram mudanças no metabolismo da planta, entre elas, maior relação C/N da folha, além de aumentar o número de folhas, taxa de crescimento, partição de nutrientes e biomassa (ZAVALA et al., 2008).

O nitrato (NO₃⁻) é a principal forma nitrogenada absorvida pelas plantas, independentemente da natureza química em que o nitrogênio (N) é aplicado no solo. Esse nutriente é um fator chave no metabolismo das plantas, além de ser o de maior demanda metabólica, fundamental para o alcance de maiores produtividades (TABUCHI et al., 2007). A enzima nitrato redutase (NR) catalisa o primeiro passo da assimilação de N pelas plantas superiores por meio da redução do nitrato (NO₃⁻) a nitrito (NO₂⁻) (YANEVA et al., 2000) e a principal rota de assimilação do N amoniacal (NH₄⁺) nas plantas se dá por meio da atividade da enzima glutamina sintetase (GS). Modulações na atividade enzimática podem ser parâmetros importantes no estudo das respostas fisiológicas ao elevado CO₂ (BLOOM, 2014), uma vez que plantas podem alterar a partição de carboidratos, nutrientes e atividade de enzimas sob tais condições.

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade enzimática relacionada ao metabolismo do nitrogênio e acúmulo de nitrato em plantas de arroz irrigado cultivadas sob elevado CO₂.

2. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no ano agrícola 2017/2018 em Câmaras de Topo Aberto (OTC'S), pertencentes ao Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM)/UFPEl, no município do Capão do Leão/RS. Foram utilizadas sementes do cultivar de arroz irrigado IRGA 424 RI.

Para a realização do experimento, foram utilizados vasos contendo 6 Kg de solo, com cinco plantas cada. Os vasos foram acondicionados no interior de duas OTC'S, com injeção controlada de CO₂, sendo uma mantida na concentração de 400 ppm (ambiente) e outra a 700 ppm (elevado CO₂). As plantas foram

cultivadas em sistema irrigado com lâmina de aproximadamente 2,0 cm e adubadas conforme as recomendações técnicas para a cultura com base na análise química do solo. As análises foram realizadas nos estádios fenológicos V5, V11, R2 e R7, a partir da coleta de quatro plantas por tratamento.

A atividade da NR foi determinada *in vivo*, segundo metodologia proposta por QUEIROZ et al., (1991). A extração e dosagem da atividade da GS foi realizada segundo CULLIMORE et al. (1983), já a extração e quantificação de nitrato foi realizada conforme metodologia proposta por CATALDO (1975).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, as repetições e os tratamentos foram arranjos em esquema fatorial 2 x 4, sendo o fator A as concentrações de CO₂ (400 ppm e 700 ppm) e o fator B os estádios fenológicos da cultura (V5, V11, R2 e R7), com quatro repetições por tratamento. Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, e atendendo os pressupostos, foram submetidos a análise de variância ($p \leq 0,05$) e as médias comparadas pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade, utilizando o software Rbio.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade da NR na cv. de arroz irrigado IRGA 424 RI foi influenciada pelos tratamentos, apresentando incremento significativo em V5 e R7 sob elevado CO₂. Comparando os diferentes estádios para a mesma concentração de CO₂, em 400 ppm não houve diferença significativa e sob 700 ppm a maior atividade enzimática foi observada no estágio V5 em comparação aos demais (Figura 1A). A NR catalisa o primeiro passo enzimático da assimilação de N em plantas superiores, e sua atividade pode ser induzida pela presença do substrato (NO₃⁻). Essa enzima é inativada na falta de CO₂, indicando que a fotossíntese é requerida para a sua ativação (KAISER; HUBER, 2001). A queda na atividade da NR observada na fase final do ciclo da cv. de arroz IRGA 424 RI está associada a maturação de grãos, pois a assimilação de nitrogênio reduz o teor de nitrato no citoplasma (SIDDIQI et al., 1989).

Quanto ao conteúdo de nitrato nas folhas, houve interação significativa entre os fatores. Entre as concentrações de CO₂, somente no estágio fenológico V5 houve diferença, com maior incremento de NO₃⁻ no tratamento 700 ppm. Analisando os diferentes estádios da cultura em cada concentração de CO₂, para 400 ppm houve menor acúmulo de NO₃⁻ em R2, porém em V5, V11 e R7 não diferiram. Já para 700 ppm, o conteúdo de nitrato reduziu significativamente em R2 e R7 quando comparado ao primeiro estágio avaliado (Figura 1B). O menor acúmulo de nitrato ao longo do ciclo da cultura sob elevado CO₂ está associado a menor atividade da NR, o qual é substrato desta enzima. Este fator pode estar relacionado a diminuição do influxo de NO₃⁻ no citossol, resultando em queda da atividade da NR (SIDDIQI; GLASS, 2002).

Para a atividade da enzima GS não houve interação significativa entre os fatores, porém, comparando os tratamentos de CO₂, a maior atividade foi observada sob 700 ppm (Figura 1C). Analisando a média dos tratamentos, houve aumento significativo ao longo do desenvolvimento da cultura (Figura 1D). LARIOS et al. (2004) relataram maior atividade da GS em folhas de girassol expostas por algumas horas ao elevado CO₂, sugerindo que a atividade dessa enzima pode ser influenciada pela disponibilidade de carbono, o que corrobora com os resultados observados no presente estudo (Figura 1C e D).

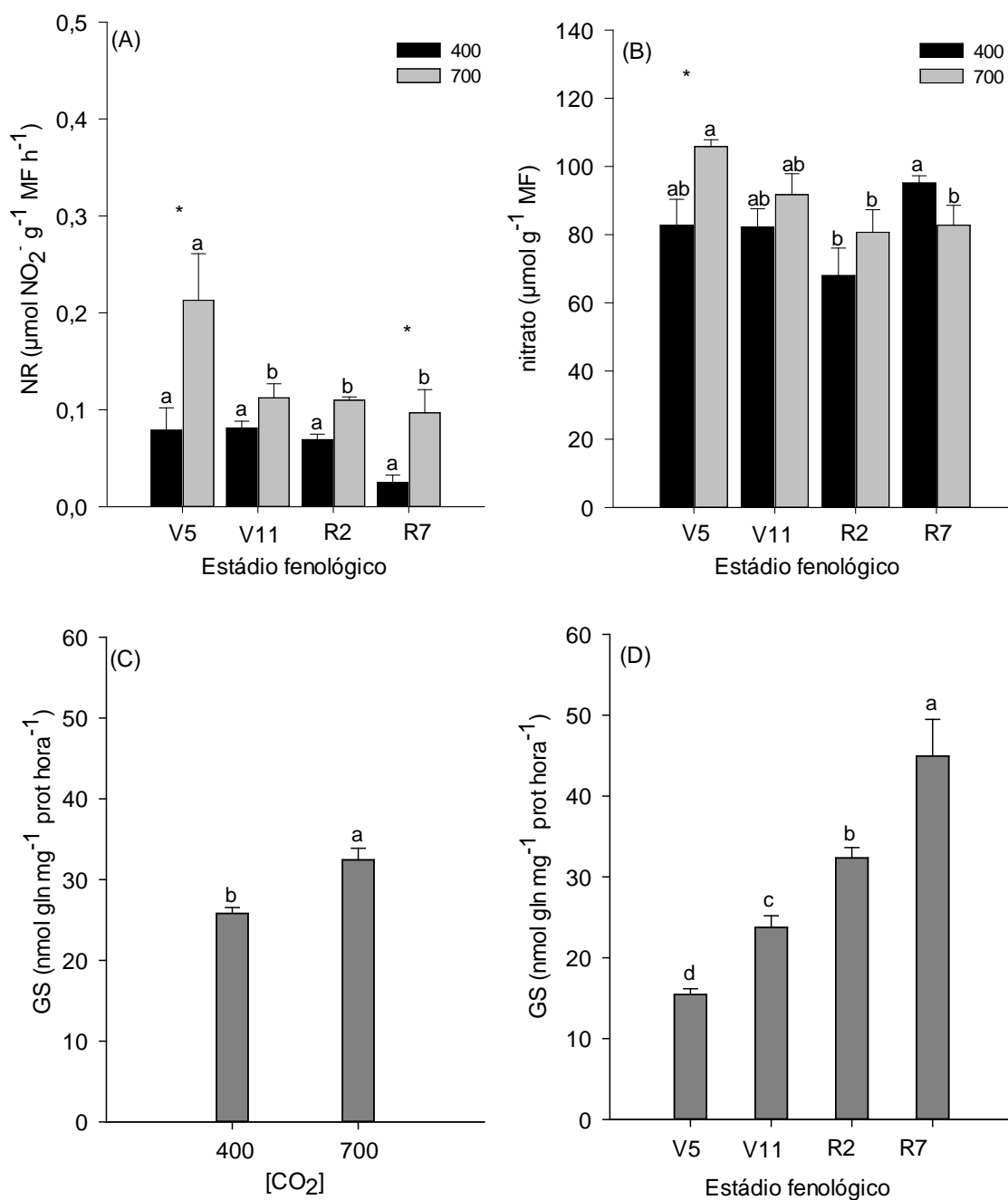


Figura 1 - Atividade da enzima nitrato redutase - NR (A); conteúdo de nitrato (B) e atividade da glutamina sintetase - GS (C e D) em folhas de arroz irrigado submetidas a 400 ppm (ambiente) e 700 ppm (elevado) de CO₂ em camaras de topo aberto. *Indica diferença significativa pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$), entre os tratamentos (400 e 700) para cada estágio avaliado; Letras minúsculas comparam o mesmo tratamento entre os estádios fenológicos.

4. CONCLUSÕES

O elevado CO₂ altera a atividade das enzimas nitrato redutase e glutamina sintetase e reduz o acúmulo de nitrato na fase reprodutiva da cultivar de arroz irrigado IRGA 424 RI.

Agradecimentos: À Fundação de Amparo à pesquisa do Estado do RS (FAPERGS) pela concessão da bolsa.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BLOOM, A.J.; BURGER, M.; KIMBALL, B.A. Nitrate assimilation is inhibited by elevated CO₂ in field-grown wheat. **Nature**. 2014.

CATALDO, D. A.; HAROON, M.; SCHRADER, L. E.; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Soil Science and Plant Analysis**, v. 6, p. 71-81, 1975.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Levantamentos da safra brasileira de grãos (safra 2016/17)**. 8º Levantamento: maio/2017. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 23 mai. 2018.

CULLIMORE, J. V.; LARA, M.; LEA, P. J.; MIFLIN. Purification and properties of two forms of glutamine synthetase from the plant fraction of Phaseolus root nodules. **Planta**, v. 157, p. 245-253, 1983.

KAISER, W.M.; HUBER, S.C. Post-translational regulation of nitrate reductase: mechanism, physiological relevance and environmental triggers. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, n. 363, p. 1981-1989, 2001.

LARIOS, B.; AGÜERA, E.; CABELLO, P.; MALDONADO, J. M.; DE LA HABA, P. The rate of CO₂ assimilation controls the expression and activity of glutamine synthetase through sugar formation in sunflower (*Helianthus annuus* L.) leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 394, p. 69-75, 2004.

NATIONAL OCEANIC AND ATMOSPHERIC ADMINISTRATION - NOAA. Recent Monthly Average Mauna Loa CO₂. Disponível em: <<https://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/> 21/04/2017>. Acesso em: 29 abr. 2018.

QUEIROZ, C.G.S. et al. Efeito do cloranfenicol, n-propanol, pH e temperatura sobre a atividade in vivo da redutase do nitrato em cafeeiros jovens. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.14, p.73-77, 1991.

SIDDIQI, M. Y.; GLASS, A. D. M. An evaluation of the evidence for, and implications of, cytoplasmic nitrate homeostasis. **Plant Cell and Environment**, v. 25, p. 1211-1217, 2002.

SIDDIQI, M. Y.; GLASS, A. D. M.; RUTH, T. J.; FERNANDO, M. Studies of the regulation of nitrate influx by barley seedlings using ¹³NO₃⁻. **Plant Physiology**, v. 90, p. 806-826, 1989.

TABUCHI, M.; ABIKO, T.; YAMAYA, T. Assimilation of ammonium ions and reutilization of nitrogen in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Experimental Botany**, v.58, n.9, p.2319–2327, 2007.

YANEVA, I.A.; BAYDANOVA, V.D.; VUNKOVA-RADEVA, R.V. Nitrate reductase activation state in leaves of molybdenum-deficient winter wheat. **Journal of Plant Physiology**, v.157, n.5, p.495-501, 2000.

ZAVALA, J. A.; CASTEEL, C. L.; DELUCIA, E. H.; BERENBAUM, M. R. Anthropogenic increase in carbon dioxide compromises plant defense against invasive insects. **National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 30, p. 5129–5133, 2008.