Brazilian Journal of Development

# O metabolismo de nitrogênio em plantas de arroz é severamente afetado pela deficiência de cálcio e magnésio

# Nitrogen metabolism in rice plants is severely affected by calcium and magnesium deficiency

DOI:10.34117/bjdv6n3-419

Recebimento dos originais: 26/02/2020
Aceitação para publicação: 26/03/2020

**Erinaldo Gomes Pereira**
Eng. Agrônomo, Doutorando do Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, Departamento de Solos.
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).
Rodovia Br 465, Km 7, 23897-000, Seropédica – RJ, Brasil.
E-mail: erinaldomn@yahoo.com.br

**Alex Gomes Saraiva**
Graduando em Agronomia.
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).
Rodovia Br 465, Km 7, 23897-000, Seropédica – RJ, Brasil.
E-mail: alexgomessjunior@gmail.com

**Albiane Carvalho Dias**
Eng. Ambiental, Doutoranda do Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, Departamento de Solos.
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).
Rodovia Br 465, Km 7, 23897-000, Seropédica – RJ, Brasil.
E-mail: albianedias@gmail.com

**Natália Dos Santos Ferreira**
Eng. Agrônoma, Doutoranda do Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, Departamento de Solos.
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).
Rodovia Br 465, Km 7, 23897-000, Seropédica – RJ, Brasil.
E-mail: nathy.santos_jp@gmail.com

**Brisa Ribeiro De Lima**
Eng. Agrônoma, Mestranda do Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, Departamento de Solos.
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).
Rodovia Br 465, Km 7, 23897-000, Seropédica – RJ, Brasil.
E-mail: brisa_lima2@hotmail.com

Brazilian Journal of Development

**Erika Da Costa Fernandes**
Eng. Agrônoma, Doutoranda do Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia,
Departamento de Fitotecnia.
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).
Rodovia Br 465, Km 7, 23897-000, Seropédica – RJ, Brasil.
E-mail: erikac.fernands@gmail.com

**Carlos Alberto Bucher**
Eng. Agrônomo, Professor Associado 1, Departamento de Fitotecnia.
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).
Rodovia Br 465, Km 7, 23897-000, Seropédica – RJ, Brasil.
E-mail: carlos.bucher@gmail.com

**Manlio Silvestre Fernandes**
Eng. Agrônomo, Professor Emérito, Departamento de Solos.
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).
Rodovia Br 465, Km 7, 23897-000, Seropédica – RJ, Brasil.
E-mail: manliosf@gmail.com

**RESUMO**

A nutrição adequada das plantas é um ponto chave para um bom desenvolvimento e produção. O desbalanço nutricional pode acarretar alterações metabólicas e interferir negativamente no ciclo vital das plantas. Objetivou-se com este trabalho examinar alterações no metabolismo de nitrogênio (N) em plantas de arroz submetidas à deficiência de cálcio e magnésio. Para isso as plantas foram cultivadas em solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), a 1/2 de força iônica, 1,5 mM de $NO_3^-$ mais 0,5 mM de $NH_4^+$ e pH 5.8, por duas semanas antes do início do tratamento. Posteriormente foram divididas em três grupos, sendo o primeiro grupo como controle (solução nutritiva completa), e os outros dois grupos com plantas cultivadas em solução nutritiva sem cálcio ou magnésio. A solução foi reposta a cada três dias. Após 15 dias nestas condições, as plantas foram coletadas, seccionadas em raízes bainhas e folhas. Foram determinados os seguintes parâmetros: massa fresca de raízes, bainhas e folhas, atividade da enzima nitrato redutase, e os teores internos de nitrato, amônio, aminoácidos totais e açúcares totais. As plantas submetidas a deficiência nutricional apresentaram diminuição da atividade da NR nas folhas e aumento nas raízes. Foi registrado menor teor de $NO_3^-$, e acúmulo de $NH_4^+$, aminoácidos totais e açúcares solúveis nas raízes, bainhas e folhas, além de redução na massa fresca total. Os resultados sugerem interferência direta do cálcio e magnésio na absorção e assimilação do N.

**Palavras-chave:** nitrato, amônio, aminoácidos, açúcares solúveis.

**ABSTRACT**

Proper plant nutrition is a key point for good development and production. Nutritional imbalance can lead to metabolic changes and negative interferences in plant life cycle. The objective was to use analytical changes in nitrogen (N) metabolism in rice (*Oryza sativa* L.) plants submitted to calcium and magnesium deficiency. For this, the plants were grown in

Brazilian Journal of Development

nutrient solution of Hoagland and Arnon, 1950, a half of ionic strength, 1.5 mM $NO_3^-$ plus 0.5 mM $NH_4^+$ and pH 5.8, by weeks before. from the beginning of the exercise. treatment. Subsequently, they were divided into three groups, the first group being control, and the other two groups with plants grown in nutrient solution without calcium or without magnesium. The solution was replaced every three days. After 15 weeks the plants were collected, sectioned on sheath roots and leaves. The following parameters were: fresh mass of roots, sheaths and leaves, activity of nitrate reductase enzyme, and internal levels of nitrate, ammonium, total amino acids and total sugars. As plants subjected to nutritional deficiency, NR activity in leaves and root increase. Lower $NO_3^-$ content, higher content of $NH_4^+$, amino acids and soluble sugars in the sheath and leaf roots, as well as reduction in total fresh mass. The results suggest that calcium and magnesium in the absorption and assimilation of N.

**Keywords:** nitrate, ammonium, amino acids, soluble sugars.

## 1 INTRODUÇÃO

Cálcio e Magnésio são macronutrientes essenciais para o desenvolvimento das plantas. São classificados como essenciais por atenderem os três critérios propostos por Arnon & Stout (1939), sendo eles: a ausência desses elementos impede que a planta complete o ciclo vital; eles não podem ser substituídos por outros elementos com propriedades similares; e participam diretamente no metabolismo das plantas, e os seus benefícios não estão relacionados somente ao fato de melhorar as características do solo, mas também o cresciento da microflora ou alguma efeito similar.

O cálcio é absorvido pelas raízes e é distribuído para a parte aérea via xilema. Possui baixa mobilidade nas plantas e encontra-se firmemente ligado a estruturas no apoplasto. Grande parte do cálcio absorvido pode ser encontrada nos vacúolos das células (ISAYENKOV et al., 2010)

A maior parte de sua atividade está relacionada à sua capacidade de conferir estabilidade nas ligações intermoleculares reversíveis, predominantemente nas paredes celulares e na membrana plasmática (WHITE; BROADLEY, 2003).

As deficiências de cálcio raramente aparecem no campo, porque os efeitos secundários limitam primeiro a produção. Como principais sintomas de deficiência apresentado pelas plantas pode-se citar: limitação do crescimento, escurecimento e apodrecimento do sistema radicular; clorose internerval nas folhas mais novas, entre outros sintomas de deficiência (LIMA et al., 2018).

O magnésio exerce diversas funções, sendo estas funções relacionadas à capacidade desse elemento em interagir com ligantes nucleofílicos. O Magnésio, juntamente com o

nitrogênio, são os únicos nutrientes do solo que são constituintes da clorofila. A ativação enzimática é um dos papeis de destaque desse elemento, sendo cofator de quase todas as enzimas fosforilativas.

Por ser um elemento móvel nas plantas, a deficiência desse nutriente acontece primeiramente nas folhas mais velhas. Os principais sintomas de deficiência são o amarelecimento, bronzeamento e vermelhidão das folhas, enquanto as nervuras permanecem verdes.

Objetivou-se com este trabalho examinar alterações no metabolismo de nitrogênio (N) de plantas de arroz (*Oryza sativa* L.), variedade Piauí, submetidas a deficiência de cálcio e magnésio.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 CONDIÇÕES DE CULTIVO

O experimento foi conduzido em câmara de crescimento do Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas (LNMP), localizado no Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

Sementes de arroz, variedade Piauí, foram desinfestadas em hipoclorito de sódio 2,5 %, germinadas sob gazes em vasos contendo água destilada, e transferidas para solução nutritiva modificada de Hoagland e Arnon (1950), a ½ força iônica, 1,5 mM de $NO_3^-$ mais 0,5 mM de $NH_4^+$ e pH 5.8, por duas semanas antes do início do tratamento. As plantas foram cultivadas a uma temperatura de 28 ºC/24 ºC (dia/noite), fotoperíodo de 14h/10h (luz/escuro), fluxo de fótons fotossintético de 400 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$ e umidade relativa de 70%. A solução nutritiva foi substituída a cada três dias. Para gerar deficiência individual dos macronutrientes em estudo, $CaSO_4$ foi retirado para deficiência de Ca, $MgSO_4$ retirado para deficiência de Mg. As plantas permaneceram 15 dias nessas condições, com troca de solução a cada três dias. Passado esse período as plantas foram coletadas, seccionadas em raízes bainhas e folhas, e pesadas para determinação da massa fresca.

### 2.2 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA NITRATO REDUTASE

A determinação da atividade da enzima nitrato redutase foi realizada em 0,2 gramas de raízes e folhas, de acordo com Jaworski (1971).

Brazilian Journal of Development

2.3 DETERMINAÇÃO DE FRAÇÕES SOLÚVEIS

Durante a coleta 0,5 gramas de raízes, bainhas e folhas foram armazenados em 20 mL de etanol 80%, particionadas com clorofórmio, e utilizadas para determinação dos teores de $NO_3^-$, $NH_4^+$, aminoácidos totais e açúcares solúveis, de acordo com Miranda et al, 2001, Felker, 1977, Yemm e Cocking, 1995, Yemm e Willis, 1954, respectivamente.

2.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 4 repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias analisadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), utilizando o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 MASSA FRESCA

As plantas submetidas a deficiência nutricional apresentaram desenvolvimento prejudicado, como menor produção de massa fresca de raízes, bainhas e folhas, quando comparadas ao tratamento controle.

A menor produção de massa fresca de raízes (-25%) e folhas (-48%) foi verificada em plantas submetidas à deficiência de cálcio, o que resultou em menor relação parte aérea/raiz (Tabela 1). Plantas com deficiência de magnésio apresentaram redução de 17% na massa fresca de raízes, de 11% na massa fresca de folhas e de 25% na produção de bainha (Tabela 1). Apesar da menor massa fresca de raízes, as plantas sob deficiência nutricional exibiram um sistema radicular mais ramificado, com raízes mais finas e compridas. Este comportamento do sistema radicular é típico de plantas com deficiência nuticional, no intuito de explorar melhor o solo.

Tabela 1. Massa fresca e razão parte aérea/raiz (P.A/R) de plantas de arroz submetidas a deficiência de cálcio ou magnésio. Médias seguidas de letras minúsculas iguais entre linhas não diferem significativamente entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade.

| Tratamentos | Raiz (g) | Bainha (g) | Folha (g) | Razão P.A/R |
|---|---|---|---|---|
| Controle | 0,77 a | 0,80 a | 0,56 a | 1,76 a |
| (-) Cálcio | 0,58 b | 0,68 b | 0,29 b | 1,70 a |
| (-) Magnésio | 0,64 ab | 0,60 b | 0,50 ab | 1,74 a |

Sung et al (2018) relataram que plantas de repolho cultivadas em solução nutritiva com ausência de N por 15 dias apresentaram redução dos níveis de absorção de cálcio e magnésio, além de outros cátions. Esse comportamento foi atribuído a efeitos sinergéticos e antagônicos entre os nutrientes presentes em solução, sugerindo que alterações no metabolismo de diferentes nutrientes era possível, o que justificou a ideia do presente trabalho em determinar a influência da deficiência de macronutrientes (cálcio e magnésio) no metabolismo de nitrogênio.

## 3.1 TEORES DE METABÓLITOS E ATIVIDADE DA ENZIMA NITRATO REDUTASE NOS TECIDOS DAS PLANTAS

A análise do perfil dos metabólitos solúveis demonstrou que a deficiência de cálcio e magnésio ocasionou alterações profundas nos teores da maioria dos metabólitos. (Tabela 2).

Tabela 2. Teores de frações solúveis em plantas de arroz submetidas a deficiência de Nitrogênio, Fósforo ou Potássio.

| N-nitrato (µmoles/g peso fresco) | | | |
|---|---|---|---|
| Partes | Controle | (-) Cálcio | (-) Magnésio |
| Raiz | 10,37a | 7,34b | 8,80b |
| Bainha | 14,23a | 8,55b | 9,62b |
| Folha | 4,24a | 2,35c | 3,73b |
| N-amônio (µmoles/g peso fresco) | | | |
| Raiz | 2,96b | 3,26ab | 3,99a |
| Bainha | 4,21b | 6,78a | 4,58b |
| Folha | 6,58b | 12,35a | 7,21b |
| N-Amino (µmoles/g peso fresco) | | | |
| Raiz | 8,14c | 17,49a | 10,20b |
| Bainha | 14,06c | 35,57a | 16,72b |
| Folha | 26,12c | 53,38a | 45,48b |
| Açúcares totais (%) | | | |
| Raiz | 2,22c | 2,97b | 9,75a |
| Bainha | 2,20c | 6,40b | 9,84a |
| Folha | 3,31c | 9,36a | 4,62b |

Médias seguidas de letras minúsculas iguais entre colunas não diferem significativamente entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade.

Brazilian Journal of Development

Os teores de $NO_3^-$ nas raízes e nas bainhas foram menores nas plantas sob deficiência nutricional. Esse menor teor de nitrato foi acompanhado por acúmulo de amônio, aminoácidos totais e açúcares solúveis em todas as partes analisadas. A absorção de $NO_3^-$ é dita como "Ativa Secundária", pois a absorção deste elemento depende diretamente da hidrólise de ATP por meio das bombas de prótons localizadas na membrana plasmáticas das raízes. Para estar biologicamente ativo, o ATP deve estar ligado a um átomo de Mg. Cada $NO_3^-$ necessita de 2H+ para ser absorvido. Portanto, a deficiência de Mg afeta diretamente o bombeamento de H+ para o meio externo, prejudicando a absorção de $NO_3^-$. Entre as deficiências em estudo, os maiores acúmulos de amônio foram registrados nas bainhas (61%) e folhas (88%) das plantas deficientes em cálcio. Nestas mesmas plantas foram registrados acúmulos de 115%, 153%, 104%, 34%, 190%, 178%, de aminoácidos totais e açúcares solúveis nas raízes, bainhas e folhas, respectivamente (Tabela 2).

Os maiores acúmulos de açúcares solúveis foram verificados nas raízes (340%) e bainhas (347%) das plantas sob deficiência de magnésio. Deficiência de magnésio resulta também em aumentos dramáticos na acumulação de carboidratos no tecido de origem, alterando o metabolismo fotossintético de carbono e restringindo a fixação de $CO_2$ (HERMANS et al., 2004).

Apesar do menor teor de $NO_3^-$ apresentado nas raízes as plantas submetidas a deficiência de cálcio e magnésio tiveram aumento de 36% e 34%, respectivamente, na atividade da enzima NR. No entanto, a atividade da NR nestas foi reduzida em 40% e 72% (Figura 1). Como foi possível observar, a redução do nitrato pela enzima NR foi severamente afetada nas folhas. Em consequência as plantas aumentaram a atividade da NR nas raízes, possivelmente para assimilar o excesso de $NO_3^-$ o qual, em condições normais, seria reduzido em sua maioria na parte aérea.

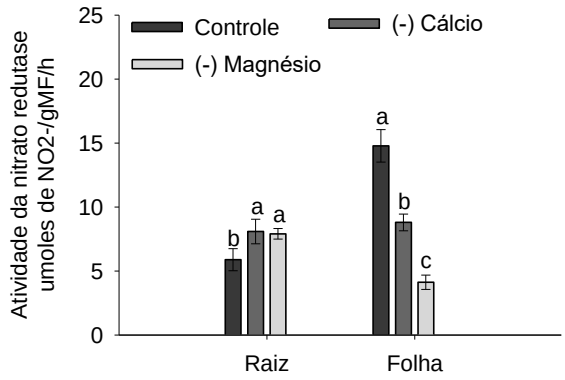



Figura 1. Atividade da enzima nitrato redutase em plantas de arroz (variedade Piauí) submetidas a deficiência de Cálcio e Magnésio.

Brazilian Journal of Development

## 4 CONCLUSÕES

A deficiência de cálcio e magnésio estimula a ramificação do sistema radicular, com investimento em raízes mais compridas e de menor diâmetro.

Por outro lado, prejudica a assimilação de nitrogênio, ocasionado o acúmulo de metabólitos solúveis e redução no desenvolvimento das plantas como um todo.

## REFERÊNCIA

ARNON, DANIEL ISAAC; STOUT, P. R. **The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper**. Plant physiology, v. 14, n. 2, p. 371, 1939.

FELKER, P. **Micro determination of nitrogen in seed protein extracts**. Analytical Chemistry, v.49, 1977.

FERREIRA, D. F. **Sisvar: a computer statistical analysis system**. Ciência e Agrotecnologia (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

HERMANS, C., JOHNSON, C. N., STRASSER, R. J., VERBRUGGEN, N. (2004): Physiological characterization of magnesium deficiency in sugar beet: acclimation to low magnesium differentially affects photosystems I and II. Planta v. 220, p. 344–355.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water-culture method for growing plants without soil.** California Agricultural of Experimental Station Bull, v.347, p.1-32, 1950.

ISAYENKOV, STANISLAV; ISNER, JEAN CHARLES; MAATHUIS, FRANS JM. **Vacuolar ion channels: roles in plant nutrition and signalling**. FEBS letters, v. 584, n. 10, p. 1982-1988, 2010.

JAWORSKI, E. G. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 43, n. 6, p. 1274-1279, 1971.

LIMA, E; VITTI, G.C.; SANTOS, L. A.; CICARONE, F. Cálcio e Magnésio. In: **Nutrição Mineral de Plantas**. Sociedade Brasileira de Ciências do Solo. 2ª ed. C. 13, p. 465-490, 2018.

MIRANDA, J.R.P.; CARVALHO, J.G.; SANTOS, D.R.; FREIRE, A.L.O.; BERTONI, J.C.; MELO, J.R.M. & CALDAS, A.L. **Silício e cloreto de sódio na nutrição mineral e produção de matéria seca de plantas de moringa (Moringa oleífera Lam.).** R. Bras. Ci. Solo, 26:957-965, 2002.

SUNG, JWAKYUNG et al. **Changes in mineral nutrient concentrations and C-N metabolism in cabbage shoots and roots following macronutrient deficiency.** Journal of Plant Nutrition and Soil Science, v. 181, n. 5, p. 777-786, 2018.

WHITE, PHILIP & BROADLEY, MARTIN. (2003). **Calcium in Plants. Annals of botany.** 92. 487-511. 10.1093/aob/mcg164.

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. **The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone.** Biochemical journal, v. 57, n. 3, p. 508, 1954.

YEMM, E.W. & COCKING, E. C. **The determination of amino-acid with ninhydrin.** Analytical Biochemistry, v.80, p.209-213, 1955.