

ESTUDOS SOBRE A NUTRIÇÃO MINERAL DO ARROZ.  
XXI - EFEITO DAS DEFICIÊNCIAS E EXCESSOS MINERAIS  
NA ATIVIDADE DA REDUTASE DE NITRATO FOLIAR E NO TEOR  
DE PROTEÍNA DOS GRÃOS (NOTA PRÉVIA) \*

E. MALAVOLTA (\*\*), A. PARADA (\*\*\*)  
G. MARTINS (\*\*\*)  
J.C. GONÇALVES (\*\*\*)  
J.F. CENTURION (\*\*\*)  
L.A.B.C. VASCONCELLOS (\*\*\*)  
M. ALMEIDA (\*\*\*)  
M.E. MARCHETTI (\*\*\*)  
O.A. PEREIRA (\*\*\*)  
P. BUZETTI (\*\*\*) , C.P. CABRAL(\*\*\*\*)

*RESUMO*

Plantas de arroz das variedades IAC-164 e IAC-165 foram cultivadas em solução nutritiva (nº 2 de Hoagland), completa com deficiência de macronutrientes e de B, Cu e Zn e com excesso de Al e Cl. No fim do ciclo, foi

- 
- (\*) Entregue para publicação em 23/12/1982. Com ajuda da FAPESP, CNEN, CNPq e BNDE.  
(\*\*) Departamento de Química, E.S.A. "Luiz de Queiroz", USP.  
(\*\*\*) Estudantes de Pós-graduação.  
(\*\*\*\*) Centro de Energia Nuclear na Agricultura, USP.

determinada a atividade da redutase de nitrato ( $\text{RNO}_3$ ) nas folhas, após a maturação, foi determinado o teor de proteína bruta dos grãos. Nas duas variedades verificou-se que a atividade enzimática foi diminuída pelas deficiências de N, P, K e pela toxidez de Al e Cl; na IAC-164 a carência de S teve o mesmo efeito depressivo; na IAC-165, além do efeito mencionado, houve o da falta de Mg. O teor de proteína bruta nos grãos diminuiu com as deficiências de N, P, S e Cu e com a toxidez de Al; aumentou aparentemente nos tratamentos com deficiência de K e Mg. Foi encontrada correlação entre atividade de  $\text{RNO}_3$  e teor proteico dos grãos quando os dados relativos aos tratamentos -K e -Mg não foram considerados.

## INTRODUÇÃO

O nitrogênio nítrico,  $\text{NO}_3^-$ , é a principal fonte de N nas condições naturais. Antes de sua incorporação nos esqueletos carbônicos da planta que o absorvem tem, entretanto, que ser reduzido ao nível de  $\text{NH}_3$ , num processo em que há, portanto, a transferência de 6 elétrons. O primeiro passo da transformação é catalisado pelo enzima redutase de nitrato ( $\text{RNO}_3$ ) que reduz nitrato a nitrito,  $\text{NO}_2^-$ . O enzima é encontrado em bactérias, fungos e plantas superiores. O isolado do espinafre tem um peso molecular de 240.000, possui Mo, é específico para dinucleotídeo de nitocinamida e adenina (NADH) e o dinucleotídeo de flavina e adenosina (FAD) e pode estar ausente ou ser desnecessário para a atividade (HEWITT & SMITH, 1974, p.284). A atividade da  $\text{RNO}_3$  pode, em geral, ser

detectada em todas as partes da planta. Sua biossíntese está sujeita à repressão e desrepressão, sendo a indução pelo substrato,  $\text{NO}_3^-$ , quase universal (HEWITT et al., 1976, pp.634-663).

Entre os trabalhos que mostram a influência da nutrição mineral na atividade enzimática citam-se os seguintes:

BAR AKIVA (1965) mostrou que, além de induzir a atividade, o fornecimento de  $\text{N-NO}_3^-$  guarda, dentro de limites, uma relação direta com a mesma.

AGUIREE et al. (1976), em sorgo granífero, verificaram que a curva de resposta da atividade da  $\text{RNO}$  à concentração de  $\text{N-NO}_3^-$  na solução mostrava um pico, o que foi comprovado por GALLO (1980) no feijoeiro.

BROWN & JONES (1976) mostraram que a falta de Fe causava diminuição na atividade.

HEWITT et al. (1976, pp.652-3) relataram que a redução do  $\text{NO}_3^-$  é diminuída pelas deficiências de: Ca, Mg (= menor formação de clorofila, menor redução dependente de luz; diminuição e estabilidade enzimática), K (necessidade para a síntese proteica), Mn (relação entre o elemento e a libertação fotossintética de  $\text{O}_2$ ).

SASAKAWA & AMAMOTO (1977) verificaram a atividade da  $\text{RNO}_3$  caía em plantas deficientes em N, P, Ca e Mg.

CAVALLINI & CARVAJAL (1978), trabalhando com o cafeeiro relataram os efeitos do P e do S na redução do nitrato.

A molécula do enzimo contém grupos - SH o que ajuda a explicar o efeito prejudicial da falta de S (FRIEDRICH & SCHRADER, 1978).

BONILLA et al. (1981) em beterraba açucareira mostraram que a atividade crescia com o nível de N na solução, caindo com um excesso do mesmo.

A atividade cai em casos de carência de Ca e, obviamente de Mo (SRIVASTAVA, 1980).

A redução do nitrato a nitrito e posteriormente a  $\text{NH}_3$  é condição obrigatória para a biossíntese dos aminoácidos que depois se incorporarão às proteínas dos grãos de arroz (ou de outra espécie), assunto que foi estudado sob vários aspectos por MURAYAMA (1965, pp. 147-172), PEREZ et al. (1973), YAN & SHIEN (1980).

É por isso aceitável admitir a hipótese que os fatores nutricionais que interferiram na atividade da  $\text{RNO}_3$  devem, eventualmente, fazê-lo também na síntese proteica (HAGEMAN, 1979, pp.591-611).

## MATERIAL E MÉTODOS

As mudas de arroz, variedades IAC-164 e IAC-165 foram obtidas mediante sementeiras em areia molhada com  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot 10^{-4}\text{M}$ .

As plantas foram cultivadas na solução de HOAGLAND & ARNON (1950) nº 2 completa ou com deficiência de macro nutrientes, B, Cu e Zn e excesso de Al (25 ppm) ou  $\text{Cl}^-$  (1750 ppm), em blocos inteiramente casualizados.

Antes da maturação completa dos grãos foram colhidas folhas medianas para a determinação da atividade da  $\text{RNO}_3$  (MALAVOLTA, 1982).

Depois da colheita, pesou-se o material e determinou-se o teor de N total nos grãos sem casca: multiplicou-se por 5,9 para se ter o teor de proteína bruta. Fez-se a análise mineral das plantas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Matéria seca

A influência dos tratamentos na produção final da matéria seca pode ser vista nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 - Produção de matéria seca (g) das diferentes partes da planta, para o cultivar IAC-164.

Tratamento	Matéria seca (g)				
	Raiz	Colmo	Folhas	Grãos c/casca	Pl.inteira
Completo	3,59	4,32	5,44	6,18	19,53
-N	0,53	0,88	1,15	0,75	3,31
-P	1,04	1,35	2,20	2,62	7,21
-K	0,82	1,11	2,83	2,29	7,05
-Ca	1,65	2,75	4,75	0,30	9,45
-Mg	1,20	1,15	3,23	1,98	7,56
-S	2,62	3,05	3,95	4,37	13,99
-B	0,97	2,96	3,93	0,10	7,96
-Cu	2,58	2,71	5,30	5,29	15,88
-Zn	2,09	1,80	3,05	2,57	9,51
+Al	1,25	0,70	1,39	1,00	4,34
+Cl	0,94	0,74	1,55	1,34	4,57

Tabela 2 - Produção de matéria seca (g) das diferentes partes da planta, para o cultivar IAC-165.

Tratamentos	Matéria seca (g)				
	Raiz	Colmo	Folhas	grão c/casca	pl-inteira
Completo	2,45	3,41	4,08	5,42	15,36
-N	1,04	0,73	1,50	1,98	5,25
-P	1,28	1,66	2,28	1,50	6,72
-K	1,30	1,72	3,03	2,38	8,43
-Ca	2,10	2,60	5,25	0,14	10,09
-Mg	1,65	1,48	3,55	2,05	8,73
-S	1,65	2,65	3,08	4,65	12,03
-B	0,74	1,66	3,21	0,00	5,61
-Cu	1,39	1,99	3,54	2,85	9,77
-Zn	1,89	2,85	4,80	4,30	13,84
+Al	1,06	0,81	1,11	1,50	4,48
+Cl	1,16	1,04	2,09	1,68	5,97

A ordem decrescente obedecida foi a seguinte:

#### IAC-164

Completo  $> -\text{Cu} > -\text{S}, > -\text{Ca} = -\text{Zn} > \text{Mg} = -\text{P} =$   
 $-\text{K} = -\text{B} > +\text{Al} = +\text{Cl} > -\text{N}$

#### IAC-165

Completo  $> -\text{Zn} > -\text{S} > -\text{Ca} = -\text{Cu} > -\text{Mg} = -\text{K} > \text{P} +$   
 $\text{Cl} = -\text{B} +\text{Al}$

Vê-se, portanto, que os tratamentos influenciaram diferentemente as variedades.

### Composição mineral

As Tabelas 3 e 4 resumem o efeito dos tratamentos em composição mineral do arroz, devendo-se observar que:

- (1) omissão de elementos no substrato provocou diminuição no teor do mesmo em todas as partes da planta, exceção feita no caso do teor de Cu no tratamento correspondente;
- (2) o excesso de Al e Cl, por outro lado, provocou elevação considerável no teor dos mesmos.

### Atividade da $\text{RN}\text{O}_3$

Os dados obtidos e a respectiva análise estatística aparecem na Tabela 5.

Pelos resultados obtidos pode-se observar que a atividade da redutase de  $\text{NO}_3^-$  é diminuída em plantas com deficiência mineral. Entretanto, tal observação não foi geral para todos os nutrientes. Assim, o tratamento menos N, causou um abaixamento na atividade do enzimo, sendo a diferença com o tratamento completo, significativa ao nível de 1% de probabilidade, tanto para a cv IAC-

Tabela 3 - Níveis de nutrientes nos órgãos da planta sadia, deficiente e com excesso, na cv. IAC-164.

Elemento	Planta sadia			Planta deficiente		
	Raiz	Colmo	Folha	Raiz	Colmo	Folha
	%					
N	2,04	1,72	2,33	0,82	0,74	0,61
P	0,48	0,27	0,20	0,12	0,07	0,08
K	1,84	4,55	2,34	0,20	0,88	0,40
Ca	0,74	0,18	1,35	0,04	0,04	0,14
Mg	0,50	0,20	0,76	0,04	0,04	0,06
S	0,19	0,10	0,17	0,05	0,02	0,04
	ppm					
B	22	22	45	13	10	28
Cu	115	28	31	146	24	28
Fe	664	94	217	-	-	-
Mo	0,39	0,65	0,88	-	-	-
Zn	80	38	35	62	24	16
	Planta com excesso					
Al	192	30	118	5368	138	794
Cl	2668	2182	1818	2781	29192	43430
Mn	15	21	108	809*	-	-

\* Dado obtido aos 72 dias após germinação



Tabela 4 - Níveis de nutrientes nos órgãos da planta sadia, deficiente e com excesso, na cv. IAC-165.

Elemento	Planta sadia				Planta deficiente			
	Raiz	Colmo	Folha		Raiz	Colmo	Folha	
N	2,33	1,69	2,24	%	1,12	0,41	0,77	
P	0,29	0,27	0,30		0,11	0,10	0,08	
K	2,38	4,98	2,06		0,16	0,81	0,36	
Ca	0,25	0,14	1,32		0,11	0,04	0,19	
Mg	0,13	0,27	0,81		0,06	0,04	0,06	
S	0,17	0,10	0,08		0,06	0,02	0,03	
B	20	24	46	ppm	12	9	28	
Cu	112	28	24		157	29	28	
Fe	484	78	169		-	-	-	
Mo	0,43	0,53	0,87		-	-	-	
Zn	67	42	28		56	28	14	
Al	122	28	112		5306	141	806	
Cl	2182	2682	2788		3182	29676	41568	
Mn	42	17	104		610*	-	-	

\* Dado obtido aos 72 dias após germinação.

164 como a IAC-165, o que concorda com as observações de BAR-AKIVA (1965), AJAKAIYE (1981) e GALLO (1980). Tal resultado também foi encontrado para os tratamentos -P, -K + Al, para ambos os cultivares, coincidindo com as observações de SASAKAWA & YAMAMOTO (1977).

Porém, observou-se que os tratamentos -Ca, -B e -Cu não diferiram significativamente do tratamento completo, o que não concorda com os resultados obtidos por BONILLA et alii (1980) com o boro, em beterraba, e com Brasil citado por SRIVASTAVA (1980) para o cálcio, em abobrinha.

Comparando-se os dois cultivares, observou-se que somente houve diferença significativa entre eles, com relação ao tratamento menos Mg, que no IAC-164 mostrou uma atividade enzimática 6 vezes maior que no IAC-165. Isto discorda de MORGAN et alii (1973), segundo o qual a ausência do Mg diminui a atividade do enzimo, pois há um decréscimo na absorção de nutrientes.

O tratamento -S não mostrou o mesmo efeito nos cultivares, sendo que no IAC-165 não diferiu do tratamento completo, discordando das observações de FRIEDRICH & SCHRADER (1978), em milho. O mesmo ocorreu com os tratamentos menos Zn e excesso de Cl, nos quais o cv. IAC-164 teve atividade enzimática semelhante, e não diferente estatisticamente, do tratamento completo.

Talvez se a atividade da  $RNO_3$  tivesse sido verificada no perfilhamento ou na época do florescimento, que segundo YUAN e SHIEN (1980) são os dois picos de atividade deste enzimo no arroz, os resultados fossem mais consistentes.

### **Teor de proteína nos grãos**

Os dados são vistos na Tabela 6.

A análise estatística mostrou a seguinte variação nos teores em função dos tratamentos:

Tabela 5 - Atividade da redutase de nitrato da folha mediana de 2 cultivares de arroz, IAC-164 e IAC-165, no final do ciclo da cultura, nos tratamentos empregados (média de duas repetições).

Tratamento	µg N-NO <sub>2</sub> g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>	
	IAC-164	IAC-165
Completo	12,55 ab	12,7 a
-N	2,65 e	3,25b
-P	3,98 de	5,31 b
-K	3,38 de	2,60 b
-Ca	11,25 abd	7,38 a
-Mg	13,80 a	2,45 b
-S	3,48 de	8,24 a
-B	10,55 abc	6,10 a
-Cu	8,88 abcd	9,25 a
-Zn	11,27 abc	5,73 b
+Al	5,45 cde	5,63 b
+Cl	7,18 bcde	5,78 b
F	13,89**	5,708 **
DMS (Tukey 5%)	5,98	6,89
C.V. (%)	19,12	27,96

C.V. (%) 19,15 51,08  
**Tabela 6 - Teores de proteína (%) em grãos de arroz, encontrados para os diferen-**  
**tes tratamentos.** 13,80\*\* 2,108\*\*

Treatments	IAC-164	IAC-165
Completo	13,525 b	14,09 abc
-N	8,280 d	8,15 e
-P	11,225 c	10,66 bcde
-K	17,500 a	17,47 a
-Mg	16,880 a	14,47 ab
-S	10,165 cd	10,26 cde
-Cu	11,685 bc	11,17 bcde
-Zn	13,255 b	14,18 bcd
+Al	10,000 cd	9,87 de
+Cl	13,210 b	14,92 abc
CV =	3,85%	7,98%
DMS =	1,91	3,9
Teste F =	74,22**	15,89**

Médias seguidas pela mesma letra não difere significativamente entre si ao nível de 1%.

**var. IAC-164**

-K = -Mg > completo = -Zn = +Cl > -P = -Cu > -S = +Al > -N

**var. IAC-165**

-K = -Mg > completo = -Zn = +Cl > -P = -Cu = -S = +Al > -N

Pode-se dizer, pois, que as duas variedades comportaram praticamente do mesmo modo.

Pode-se tentar explicar pelo menos alguns dos resultados obtidos:

- (1) os efeitos depressivos no teor proteico causados pelas deficiências de Ne de S devem ser devidos à falta desses dois elementos para a formação dos aminoácidos que, conjugados, dão a cadeia polipeptídica;
- (2) a influência da falta de P é entendida tendo-se presente a participação do trifosfato de adenosina na ativação de aminoácidos, primeiro passo para a síntese de proteína e bem assim a necessidade do elemento para a formação de ácidos nucleicos essenciais ao processo em outras fases;
- (3) o excesso de Al sabidamente interfere em reações de fosforilações.

A relação direta, dentro de limites, entre fornecimento de K, incorporação de aminoácidos em proteínas e teor proteico dos grãos é conhecida (KOCH, 1977, pp.62-82). É razoável admitir que a elevação no teor de proteínas observada na Tabela 6 seja apenas aparente. Como o método de determinação empregado não discrimina entre

N-proteico e N-amínico, é muito possível que somente parte do N-total determinado corresponda de fato a proteínas, o restante sendo representado por aminoácidos e outros compostos não proteicos. Além disso é também possível que o transporte de carboidratos para o grão e que a síntese de amido tenham sido mais afetadas nas condições do ensaio: em consequência teria havido menor "diluição" da proteína do grão no carboidrato presente. Menos que explicações, são estas hipóteses de trabalho.

Vários passos da síntese proteica dependem da presença de Mg (ver HEWITT & SMITH, 1975, pp.158-9) o que deveria fazer, portanto, que em condições de deficiência diminuísse o teor de proteína - o que não foi notado no presente experimento, havendo aumento aparente. É possível, pois, que nos grãos houvesse muito N-alfa amínico livre, como se admitiu no caso anterior. Por outro lado pode ter havido aqui também menor transporte de carboidratos para o grão em formação: HEWITT & SMITH (1975, p. 159) relatam acumulação excessiva de amido no cloroplasto de plantas carentes em Mg.

Na literatura disponível não foi encontrada informação que permitisse tentar explicar o efeito da deficiência de Cu que fez baixar o teor de proteína.

#### **Atividade da redutase de nitrato e teor de proteína**

Como já foi mencionado, é de se esperar que exista, dentro de limites, uma relação direta entre atividade da  $\text{RN}O_3$  e o teor de proteína.

Excluindo-se os valores correspondentes aos tratamentos -K e -Mg discutidos acima, vê-se na Figura 1, existir correlação entre as duas variáveis.

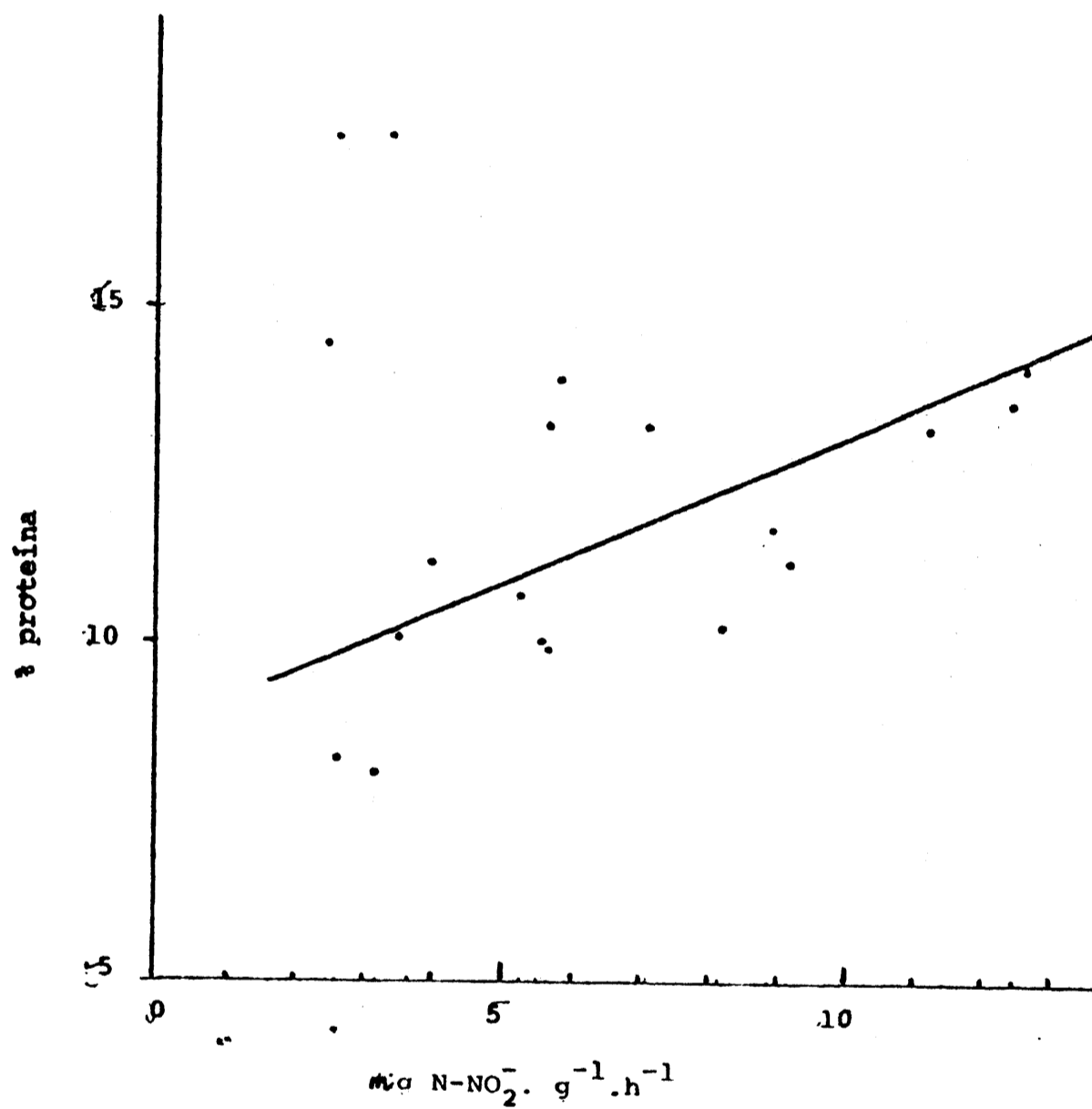


Figura 1 - Relação entre atividade de redutase de nitrito e teor de proteína dos grãos.

*SUMMARY*

## STUDIES ON THE MINERAL NUTRITION OF THE RICE PLANT. XXI. EFFECTS OF MINERAL DEFICIENCIES AND EXCESSES ON THE ACTIVITY OF LEAF NITRATE REDUCTASE AND GRAIN PROTEIN (PRELIMINARY NOTE)

Rice plants, varieties IAC-164 and IAC-165 were grown in number 2 Hoagland's solution, full strength, and with excess of Al and Cl. Nitrate reductase ( $\text{RN}\text{O}_3$ ) activity was assayed in the leaves one month before harvesting. When the grains were already dry, plants were harvested, the mineral contents of the organs was determined, and crude protein in the grains was also determined (semi micro Kjeldahl). Statistical analyses of the data thus obtained showed that enzymatic activity decreased when the plants were deficient in N, P, and K, as well as when the plants were deficient in N, P, and K, as well as when they had excess Al and Cl. Sulfur deficiency depressed  $\text{RN}\text{O}_3$  activity in variety IAC-164 only. Lack of Mg had the same effect in variety IAC-165. Crude protein in the grains decreased due to lack of N, P, Cu, and S, and to excess both of Al and Cl. In both varieties, however, the deficiencies of K and Mg had apparently the opposite effect. By putting together data from all treatments (except -K and -Mg) a positive correlation between leaf  $\text{RN}\text{O}_3$  activity and grain protein was found to exist.

## CO-AUTORES

Estudantes de pós-graduação: E.A. Pauletto, J. H. Campelo Jr., J.R. Freitas, L.F. Cavalcanti, M.L. Liva, M.F. Fiore, O. Primavesi, S.M. Fonseca, A.B. Vecchiato, A.C.S. Medeiros, H.J. Kliemann, J.A. Azevedo, M.D. Thomazini, P.J.C. Genú, S.R. Leão.

## LITERATURA CITADA

AJAKAYE, C., 1981. Influence of soil application of nitrogen on nitrate reductase activity, leaf and grain protein in sorghum. *Plant and Soil* **60**(3): 423-434.



- AGUIRRE, A.C.P.; CAETANO, A.A.; GARCIA, L.L.C., 1976. Avaliação do estado nutricional de plantas de sorgo granífero através da atividade da redutase do nitrato. Rel. mimeo., Piracicaba.
- BAR AKIVA, A., 1965. Nitrate reduction in citrus trees leaves. *Plant and Soil* 23: 141-144.
- BONILLA, I.; CADAHIA; CARPENA, O., 1980. Effects of boron on nitrogen metabolism and sugar level of sugar beet. *Plant and Soil* 57: 3-9.
- BROWN, J.C.; JONES, W.E., 1976. Nitrate reductase activity in calcifungous and calcicolous tomatoes as affected by iron stress. *Physiol. Plant* 38: 273-277.
- CAVALINI, J.A.; CARVAJAL, J.F., 1978. Mineral nutrition and nitrate reductase activity in coffee trees affected by mineral deficiency. *Turrialba* 28(1): 61-66.
- FRIEDRICH, J.W.; SCHRADER, L.E., 1978. Sulfur deprivation and nitrogen metabolism in maize seedlings. *Plant Physiol.* 61: 300-303.
- GALLO, L.A., 1980. Atividade da redutase de nitrato sob influência de fatores físicos e químicos em feijão, Diss. de Mestrado, Piracicaba.
- HAGEMAN, R.H., 1979. Integration of nitrogen assimilation in relation to yield. Em: **Nitrogen assimilation of plants**, Edit. por E.J. Hewitt & C.V. Cutting, Academic Press, London.
- HEWITT, E.J.; SMITH, T.A., 1974. **Plant mineral nutrition**, The English Universities Press Ltd., Londres.
- HEWITT, E.J.; HUCKLESBY, D.P.; NOTTON, B.A., 1976. Nitrate metabolism. Em: **Plant Biochemistry**, 3a. ed., Academic Press, Nova Iorque.
- HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I., 1960. **The water culture-method for growing plants without soil**, Calif. Agr. Exp. Sta. Cir. 347.
- HOCK, K., 1975. Influence of potassium on grain protein composition. Em: **Fertilizer use and protein production**, Proc. 11th Coll. of the International Potash-Institute, Rome. Bornholm. Publ. pelo Internatl. Potash Inst., Berna.

- MALAVOLTA, E., 1982. **Deficiência de macro e micronutrientes e toxidez de Cl, Mn e Al no arroz**, Postila mimeo., Piracicaba.
- MENGEL, K., 1977. Energy absorption, energy conversion, and energy storage of crops in relation to endogenous and exogenous factors. **Em: Fertilizer use and Production of carbohydrates and lipids**, Proc. 13th Colloquium of the International Potash Institute, N. York. Publ. pelo Internatl. Potash Inst., Berna.
- MORGAN, M.A.; VOLK, R.J.; JACKSON, W.A., 1973. Simultaneous influx and efflux of nitrate during uptake by perennial ryegrass. *Plant Physiol.* **51**: 267-272.
- MURAYAMA, N., 1965. The influence of mineral nutrition on the characteristics of plant organ. **Em: The mineral nutrition of the rice plant**. The John Hopkins Press, Baltimore.
- PEREZ, C.M.; CARGANPANG, G.B.; ESMAMA, B.V., 1973. Protein metabolism in leaves of developing grains of rice differing in grain protein content. *Plant Physiol.* **51**: 537-542.
- SASAKAWA, H.; YAMAMOTO, Y., 1977. Influence of some internal and external conditions on the interaction of nitrate reduction in rice seedlings. *Plant and Cell Physiol.* **18**: 207-214.
- SRIVASTAVA, H.S., 1980. Regulation of nitrate reductase activity in higher plants. *Phytochemistry* **19**: 725-633.
- YUAN, H.F.; SHIEN, Y.S., 1980. Seasonal variation of nitrate reductase, glutamate dehydrogenase and the soluble nitrogenous compounds during rice growth. *Bot. Bull. Acad. Sinica.* **1(4)**: 35-51.