



O Molibdênio como Potencializador da Atividade da Redutase do Nitrato em Cana-de-açúcar⁽¹⁾.

Maria José Alves de Moura⁽²⁾; Renato Lemos dos Santos⁽³⁾; Fernando José Freire⁽⁴⁾; Emídio Cantídio Almeida de Oliveira⁽⁵⁾ Monaliza Barbosa da Costa Santos⁽⁶⁾ José de Arruda Barbosa⁽⁷⁾.

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos da FACEPE, CNPq, UFRPE, IFPE.

⁽²⁾ Estudante de Agronomia no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco (IFPE) – Campus Vitória de Santo Antão; Vitória de Santo Antão - PE; maryalvesfeliz@gmail.com; ⁽³⁾ Professor do IFPE – Campus Vitória de Santo Antão- PE; ⁽⁴⁾ Professor da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE); ⁽⁵⁾ Professor da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE); ⁽⁶⁾ Doutoranda no Programa de Pós-graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares/UFPE, ⁽⁷⁾ Estudante de Agronomia, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco (IFPE).

RESUMO: O Nitrogênio é um dos nutrientes mais requeridos pela cana-de-açúcar. O alto consumo de N e as perdas no sistema solo-planta faz com que as doses de fertilizantes nitrogenados sejam elevadas, aumentando o custo da produção da cana-de-açúcar. Visando esses aspectos, é necessário o desenvolvimento de pesquisas com intuito de aumentar a eficiência da adubação nitrogenada, como a potencialização da atividade da redutase do nitrato, que pode aumentar a absorção de $N-NO_3^-$. O trabalho objetivou avaliar a atividade da enzima redutase do nitrato na folha +1 e nas raízes de variedades de cana-de-açúcar adubadas com Molibdênio. Foram cultivadas as variedades de RB867515 e RB92579, submetidas a duas doses de N (0 e 60 kg ha⁻¹) e duas doses de Mo (0 e 200 g ha⁻¹). O ensaio foi disposto casualmente em blocos. Aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP) foram coletadas três folhas +1 e uma porção de raiz por parcela para avaliar a atividade da redutase do nitrato (ARN). As variedades apresentam diferentes ARN, sendo maior na folha + 1. A aplicação do N reduz a ARN, diferentemente da aplicação do Mo que potencializa a atividade da enzima nas variedades de cana-de-açúcar.

Termos de indexação: Assimilação de N, Absorção de N, *Saccharum* spp.

INTRODUÇÃO

A cultura da cana-de-açúcar tem importância comprovada para economia nacional. Portanto fazem necessários mais estudos que objetivem aumentar a eficiência nutricional da cultura. Pois a cana-de-açúcar vem exigindo cada vez mais nutrientes para atingir seu potencial de produção. Para atender a demanda se faz necessário o uso de fertilizantes, que em sua maioria são importados e de elevados preços, encarecendo os custos de produção (SANTOS, 2014).

Entre estes nutrientes o nitrogênio (N) é um dos mais requeridos pela cultura. Normalmente, o N é absorvido do solo nas formas amoniacal ($N-NH_4^+$) e nítrica ($N-NO_3^-$), sendo esta última considerada tradicionalmente como a preferencial (ROBINSON et al., 2011). Para a assimilação dessa forma de N, a enzima redutase do nitrato é essencial.

Contudo, a fertilização nitrogenada pouco contribui com o N absorvido no ciclo de cana planta, onde apenas 10 a 16% do N absorvido do solo pela cana são oriundos da adubação (TRIVELIN et al., 1995; GAVA et al., 2003).

A enzima redutase do nitrato, que é considerada uma flavoproteína formada por duas subunidades idênticas, sendo cada uma composta por flavina adenina dinucleotídeo, Feheme e molibdopterina, pode ser encontrada no citossol das células corticais e nas células do mesófilo da parte aérea. Assim, quanto maior a absorção e assimilação de NO_3^- pela planta, maior será a atividade da redutase do nitrato (ARN). Portanto se a redutase do nitrato se apresentar com baixo fluxo catalítico ou atividade, a assimilação do $N-NO_3^-$ será reduzida e conseqüentemente, haverá redução da produtividade.

Nesse contexto, acredita-se que o uso de Mo favorece a atividade da enzima redutase do nitrato na cana-de-açúcar, que pode aumentar a absorção de N e a produtividade. Portanto o trabalho objetivou avaliar a atividade da enzima redutase do nitrato na folha +1 e raiz em variedades de cana-de-açúcar adubadas com Mo.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em campo na Estação Experimental de Cana-de-açúcar de Carpina, no município de Carpina – PE, em um ARGISSOLO VERMELHO AMARELO distrocóeso, de março de 2013 a março de 2014.

Foram utilizadas duas variedades de cana-de-açúcar, a RB92579 e a RB867515, a mais



plantada no Nordeste e no Brasil, respectivamente (CHAPOLA et al., 2012), submetidas a duas doses de nitrogênio (0 e 60 kg ha⁻¹) e duas doses de molibdênio (0 e 200 g ha⁻¹), de acordo com Oliveira (2012), compondo um arranjo fatorial de tratamentos (2 x 2 x 2), com quatro repetições, totalizando 32 unidades experimentais. Foi utilizado como fonte de N a ureia e como fonte de Mo o molibdato de sódio. Os fertilizantes foram aplicados em fundação, durante o plantio da cana-de-açúcar. O molibdato de sódio foi diluído em água e aplicado com o auxílio de pulverizador costal.

O ensaio foi disposto casualmente em blocos. Cada parcela foi composta por sete sulcos de 10 m de comprimento, espaçados por um metro, totalizando 70 m². A área útil foi formada pelos cinco sulcos centrais, descartando-se um metro das extremidades, totalizando 40 m². Entretanto, foram destinados dois sulcos da parcela útil para amostragem destrutiva.

O experimento foi instalado 40 dias após a aplicação à lanço de 2,2 Mg ha⁻¹ de calcário dolomítico em área total e incorporado até 0,2 m de profundidade. A necessidade de calagem foi calculada pelo método da saturação por bases (RIBEIRO et al., 1999). A adubação fosfatada foi realizada considerando o teor de P disponível e a textura do solo de acordo com Simões Neto et al. (2011), sendo aplicados 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅ como superfosfato triplo (40% de P₂O₅). Para o K, a recomendação foi feita com base na expectativa de produção, estimando-se produtividades acima de 100 t ha⁻¹, para tal foi utilizado um valor médio de eficiência de K₂O de 1,4 kg t⁻¹ de cana (OLIVEIRA et al., 2010), sendo aplicados 140 kg ha⁻¹ de K₂O, como cloreto de potássio (60% de K₂O). O plantio foi realizado em sulcos de aproximadamente 0,2 m de profundidade, onde foram distribuídos 14 Mg ha⁻¹ de colmos com sete meses de idade, dispostos em corrente dupla, de modo que a ponta de um coincida com a base do outro. Posteriormente, os colmos foram seccionados em toletes e se procedeu a aplicação dos fertilizantes e fechamento do sulco.

Aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP) foi realizada a avaliação da ARN na folha +1 e nas raízes das variedades de cana-de-açúcar. A ARN foi determinada *in vivo*, segundo metodologia sugerida por Hageman & Reed (1980). Das 9:30 e 12:30 h foram amostradas três folhas +1 e uma porção de raiz por parcela (de três touceiras), sendo protegidas com papel alumínio e acondicionadas em caixas térmicas contendo gelo e posteriormente levadas ao laboratório para determinação da ARN. Na ausência de luz foram incubados 0,25 g de discos de tecido foliar (terço médio, excluindo a nervura central) e 0,5 g de raízes, em 5 mL de solução, composta de K₂HPO₄ a 0,1 mol L⁻¹, KNO₃ a 0,1

mol L⁻¹, n-propanol a 1% e espalhante adesivo a 0,01%, durante 1 h a 25 °C, após vácuo de 30 segundos. Após a incubação foram coletadas alíquotas de 1 mL, e em seguida, adicionados 5 mL da solução de sulfanilamida 0,5% em HCl a 0,75 mol L⁻¹ e N-etilenodiaminadihidroclorato (N-naftil) 0,01% e 4 mL de água deionizada. Após 15 minutos de reação foi realizada a determinação de nitrito em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 540 nm. Os resultados foram correlacionados com uma curva padrão de nitrito, nas concentrações de 0, 1, 2, 3, 4 e 5 µmol L⁻¹ na solução de leitura, determinando-se a ARN em µmol NO₂⁻ g⁻¹ h⁻¹.

Os dados foram avaliados considerando-se as variedades de cana e as doses de Mo e de N, como medidas repetidas no tempo. Nas variáveis em que se observaram efeito significativo (p<0,05) foi realizada análise de regressão, sendo selecionando o modelo que melhor representou o fenômeno, aquele com maior valor de coeficiente de determinação (R²) e significância dos parâmetros até 5% pelo teste t.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados da ARN na folha +1 e nas raízes das variedades de cana se ajustaram ao modelo de sino, sendo possível a seleção do período do ciclo de cana planta no qual a ARN atingiu seu pico, ou seja, a máxima atividade (**Figuras 1 e 2**).

A ARN das variedades de cana se elevou 50 DAP, atingindo a máxima atividade próximo aos 100 DAP, e em seguida iniciou uma fase de declínio, alcançando a estabilização à cerca dos 130 DAP (**Figuras 1 e 2**). De uma maneira geral a máxima ARN na folha +1 das variedades de cana-de-açúcar foi superior a das raízes.

Outro aspecto que diferenciou a ARN na folha +1 e das raízes das variedades foi o tempo para a ARN atingir sua máxima expressão. Enquanto que na folha +1 este pico foi atingido, em média, com 94,5 dias, nas raízes isto só ocorreu aos 103 dias (**Figuras 1 e 2**).

Em média, a ARN na folha +1 e nas raízes da variedade RB92579 foi maior do que na RB867515 (**Figuras 1 e 2**). Esta diferença foi maior na folha +1 e mais estreita nas raízes. A ARN na folha +1 e nas raízes da variedade RB92579 foi, em média, de 0,83 e 0,46 µmol NO₂⁻ g⁻¹ h⁻¹, respectivamente. Na RB867515, a ARN na folha +1 e nas raízes foi, em média, de 0,61 e 0,43 µmol NO₂⁻ g⁻¹ h⁻¹, respectivamente. Esse comportamento permite sugerir que a RB92579 tenha preferência em absorver nitrato quando comparada a RB867515.

A ARN pode variar com os genótipos de cana-de-açúcar (HEMAPRABHA et al., 2013). A preferência de absorção por uma das formas de



N, nítrica ou amoniacal, altera a atividade da enzima. Caso a preferência do genótipo seja por amônio, a atividade da enzima é baixa, podendo ser nula (KAISER et al., 2005).

A adição de N reduziu a ARN na folha +1 e nas raízes, independente da variedade e da aplicação de Mo (**Figuras 1 e 2**). No entanto, esta redução foi bem mais acentuada na variedade RB92579, principalmente nas raízes. Como a fonte de N utilizada para a adição deste nutriente foi a ureia, houve um incremento nos teores de NH_4^+ no solo, mesmo que tenha sido por um curto período de tempo, que resultou numa maior absorção de N na forma de amônio, que não exerce influência na ARN.

O metabolismo de assimilação de N da RB92579 parece dependente do teor de nitrato, pois sua possível diminuição no solo influenciou negativamente na ARN desta variedade. Provavelmente, a RB867515 não alterou seu metabolismo de assimilação de N, manteve a ARN praticamente inalterada, mesmo com uma maior quantidade de amônio no solo.

Tanto na folha +1, como nas raízes a presença de Mo potencializou a ARN, independente da variedade e da adição de N (**Figuras 1 e 2**). O Mo exerceu seu papel de ativador da redutase do nitrato. A adição de Mo também reduziu o tempo para que a ARN atingisse seu pico de maior atividade, principalmente na folha +1, sem adição de N na variedade RB92579 (**Figura 1**). Em estudos feitos por Li-Ping et al. (2007), também foi observado que a ARN na folha +1 foi elevada pelo aumento da concentração de Mo.

CONCLUSÕES

As variedades apresentam diferentes atividade da redutase do nitrato, sendo maior na folha +1;

A aplicação do nitrogênio reduz a atividade da redutase do nitrato, diferentemente da aplicação do molibdênio que potencializa a atividade da enzima nas variedades de cana-de-açúcar.

AGRADECIMENTOS

Ao IFPE; a Estação Experimental de cana-de-açúcar (EECAC); ao professor Renato Lemos dos Santos; e ao grupo de pesquisa Fertilidade do solo e Agroenergia/IFPE.

REFERÊNCIAS

CHAPOLA ET AL., R. G. **Censo varietal 2012**. Araras: CCA-UFSCar, 2012. p. 55

EMAPRABHA, G. et al. Evaluation of drought Tolerance Potential of Elite Genotypes and

Progenies of Sugarcane (*Saccharum sp. hybrids*). **Sugar Tech**, v. 15, n. 1, p. 9–16, 2013.

GAVA, G. J. C. et al. RECUPERAÇÃO DO NITROGÊNIO (15N) DA URÉIA E DA PALHADA POR SOQUEIRA DE CANA-DE-AÇÚCAR (*Saccharum spp.*). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 621–630, 2003.

HAGEMAN, R.H.; REED, A.J. **Nitrate reductase from higher plants**. San Diego: Academic Press, 1980. p.270-280. (Methods in nzymology, v.69).

KAISER, B. N. et al. The Role of Molybdenum in Agricultural Plant Production. **Annals of Botany**, v. 96, p. 745–754, 2005.

LI-PING, W.; YANG-RUI, L.; LI-TAO, Y. Effects of Molybdenum on Nitrogen Metabolism of Sugarcane. **Sugar Tech**, v. 9, n. 1, p. 36–42, 2007.

OLIVEIRA, A. C. DE. **Interação da adubação nitrogenada e molibídica em cana-de-açúcar**. [s.l.] Universidade Federal Rural de Pernambuco - Recife, 2012.

OLIVEIRA, E. C. A. DE et al. Extração exportação de nutrientes por variedades de cana-de-açúcar cultivadas sob irrigação plena. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 4, p. 1343–1352, 2010.

RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ VENEGAS, V. H. (ED.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5. Aproximação**. Viçosa: Comissão de fertilidade do solo do estado de Minas Gerais, 1999. p. 359

ROBINSON, N. et al. Nitrate paradigm does not hold up for sugarcane. **PloS one**, v. 6,n. 4, p. e19045, jan. 2011.

SIMÕES NETO, D. E. et al. Níveis críticos de fósforo em solos cultivados com cana-de-açúcar em Pernambuco. **Revista Ceres**, v. 58, n. 6, p. 802–810, 2011.

TRIVELIN, P. C. O.; VICTORIA, R. L.; RODRIGUES, J. C. S. pab95_02_dez.pdf. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 12, p. 1375–1385, 1995.

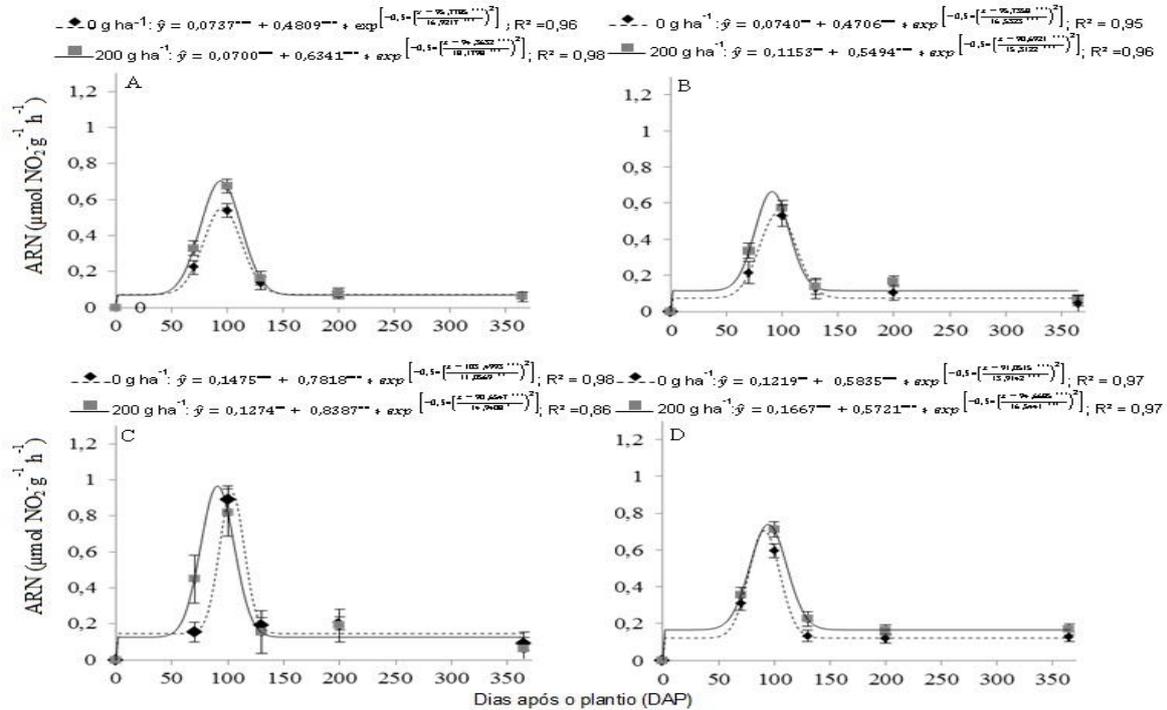


Figura 1. Atividade da redutase do nitrato (ARN) na folha +1 de cana-de-açúcar na ausência e na presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP).

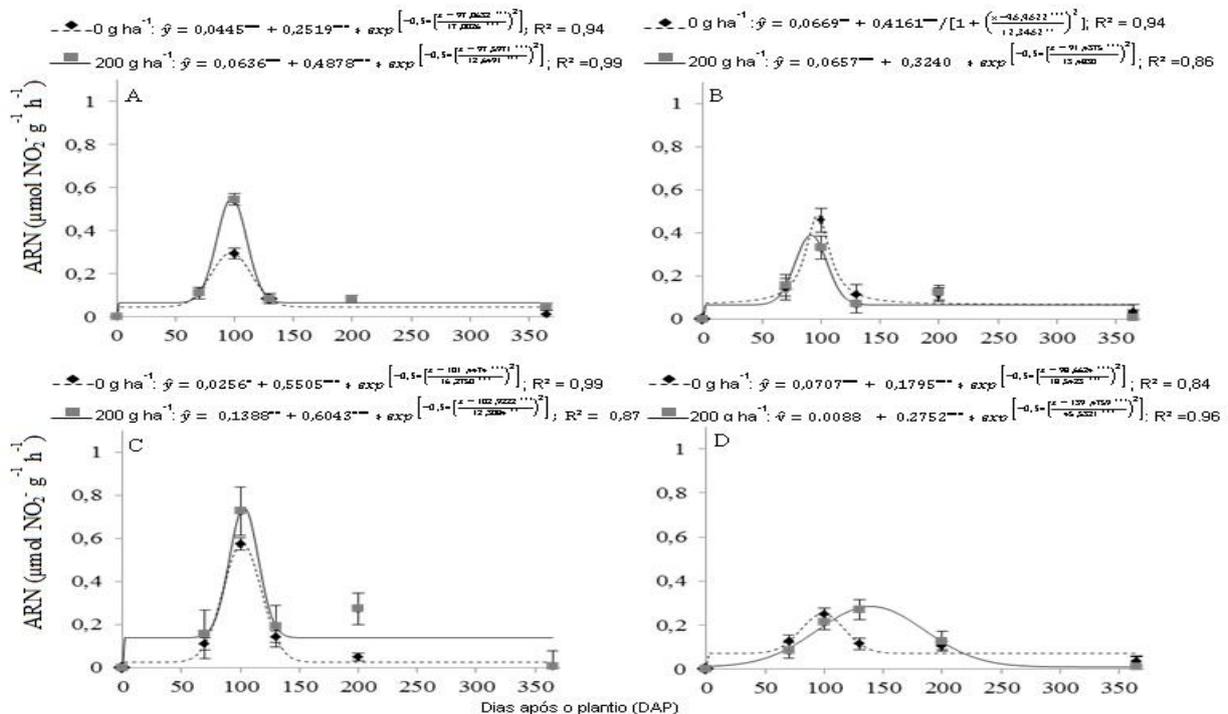


Figura 2. Atividade da redutase do nitrato (ARN) nas raízes de cana-de-açúcar na ausência e na presença de molibdênio da variedade RB 867515 na ausência de nitrogênio (A) e na presença de nitrogênio (B) e da variedade RB92579 na ausência de nitrogênio (C) e na presença de



nitrogênio (D) aos 70, 100, 130, 200 e 365 dias após o plantio (DAP).