

## A ENZIMA REDUTASE DO NITRATO EM ESPÉCIES ARBÓREAS: LOCALIZAÇÃO E IMPORTÂNCIA ECOLÓGICA.

---

SILVIA REGINA GOI  
PhD, Prof Adjunto, DCA-IF-UFRRJ

Nitrato e amônia são as principais fontes de nitrogênio inorgânico absorvidos pelas raízes das plantas superiores. A maior parte da amônia é incorporada em compostos orgânicos nas raízes, enquanto o nitrato é móvel no xilema e pode também ser estocado nos vacúolos das raízes e parte aérea. Contudo, para ser incorporado em estruturas orgânicas e exercer suas funções essenciais como nutriente, o nitrato tem que ser reduzido a amônia. A importância da redução e assimilação de nitrato para as plantas é semelhante à redução e assimilação de CO<sub>2</sub> na fotossíntese (Marschner, 1989). A habilidade de reduzir e incorporar NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N em compostos orgânicos é praticamente generalizada entre as plantas superiores (Wingsle et al., 1987).

A redução do nitrato a amônia envolve primeiramente a redução do nitrato a nitrito, catalizada pela enzima redutase do nitrato (RN) e a redução do nitrito a amônia, catalizada pela enzima redutase do nitrito (Warner and Kleinhafs, 1992). A redutase do nitrato é uma enzima complexa, com peso molecular de aproximadamente 200.000 em plantas superiores. Ela contém vários grupos prostéticos, incluindo FAD, citocromo e molibdênio. Está localizada no citoplasma das células de plantas superiores e requer NADH ou NADHP como doador de elétrons. Nas raízes, redutor e ATP para assimilação de nitrato, são derivados da respiração mitocondrial, pela via pentose do fosfato e

oxidação do malato (Lee, 1980).

Para muitas espécies, a atividade da enzima redutase do nitrato é baixa ou indetectável na ausência de nitrato no substrato de crescimento (Andrews, 1986). Na família Leguminosae, a RN constitutiva (que não depende da indução pelo nitrato) foi observada em *Phaseolus vulgaris* e *Glycine max* (Goi, 1981). Contudo, a RN constitutiva não foi detectada em todas as espécies examinadas das sub-famílias Caesalpinioideae e Mimosoideae, mas os valores encontrados para *Erythrina speciosa* e *Erythrina vespertillo* (sub-família Papilionoideae) foram extremamente altos (Andrews et al., 1990).

Os possíveis sítios de redução do nitrato são as raízes, caules e folhas (Andrews et al, 1984). Os nódulos radiculares de leguminosas também podem conter a enzima RN e essa atividade pode contribuir para a assimilação de nitrato pela planta (Hunter, 1983).

Com relação à distribuição desta enzima na planta, estudos envolvendo uma grande variedade de espécies mostraram que o fracionamento da redução de nitrato entre a raiz e a parte aérea não é necessariamente constante para cada espécie. A assimilação de nitrato nas folhas pode custar menos em termos energéticos e talvez esta característica confira vantagem competitiva para uma determinada espécie (Smirnov et al, 1984). Plantas lenhosas apresentam uma tendência

em assimilar  $\text{NO}_3^-$  primariamente na raiz (Pate, 1980), enquanto plantas ruderais (Lee & Stewart, 1978) e espécies pioneiras (Smirnov et al, 1984) possuem alta atividade da RN nas folhas.

Em um estudo da redução de nitrato em árvores, Stewart et al, (1989) dividiu as plantas em 3 grupos usando medidas da distribuição da RN entre raiz e parte aérea. O primeiro grupo, consiste de espécies nas quais o principal local de redução de nitrato é a parte aérea e pouca redução de nitrato ocorre nas raízes; o segundo grupo compreende espécies que exibem a capacidade para assimilação na raiz e parte aérea e o terceiro grupo inclui espécies em que a raiz é o principal local de assimilação de nitrato e pouco ou nenhum nitrato é encontrado na seiva do xilema. As leguminosas examinadas foram incluídas no 2. e 3. grupo. Aproximadamente 50% das leguminosas analisadas do sudeste brasileiro, apresentaram a atividade da RN maior na raiz do que na parte aérea (Stewart et al, 1992). Esta predisposição para redução de nitrato na raiz entre as leguminosas, pode ser uma consequência da obrigatoriedade da assimilação de nitrogênio pela raiz imposta pela adaptação à utilização da amônia ou  $\text{N}_2$ , que poderiam ser as formas de nitrogênio disponíveis no solo, em cada nicho ecológico (Stewart et al, 1989). Em *Acacia auriculiformis*, *Acacia mangium*, *Acacia polyacantha* e *Mimosa caesalpinifolia*, a atividade da RN foi maior nas raízes e não foi detectada RN constitutiva nestas espécies (Goi, 1993). Estas 4 espécies, embora noduladas, apresentaram a  $\text{NH}_4^+$  como fonte preferencial de nitrogênio, na complementação mineral na fase de plântula (Goi et al, 1992; Goi, 1993).

Stewart et al (1993) citam que entre espécies de comunidades com vegetação do tipo Mediterrânea, algumas espécies fixadoras de  $\text{N}_2$  foram ativas em reduzir e transportar nitrato, mas outras foram virtualmente inativas e portanto adaptadas a absorver N de outras fontes.

Em plântulas de pêssego (Gojon et al, 1991), a raiz também foi considerada o principal local de redução de nitrato.

Entre as coníferas, existem dados contraditórios sobre a importância da redução de nitrato na raiz ou parte aérea. Smirnov et

al, (1984) demonstraram alta atividade da RN em acículas de várias coníferas e Adams & Attwill (1982a) encontraram atividade da RN em acículas de *Pinus radiata* crescido no campo. Contudo, em outro experimento, nenhuma atividade da RN foi detectada na parte aérea de plântulas de pinus crescidas em areia e adubadas com diferentes concentrações de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  (Adams & Attwill 1982b). Resultados indicando baixas atividades da RN nas acículas, também foram encontradas em plântulas de *Pinus sylvestris* L. (Wingsle et al, 1987).

Em geral, comunidades florestais possuem uma continuidade da atividade da RN que decresce a partir de espécies pioneiras até espécies das fases mais avançadas do processo de sucessão. Em levantamento recente, feito entre espécies de florestas tropicais, um grande número de espécies arbóreas pioneiras apresentaram altos níveis de RN nas folhas enquanto apenas algumas espécies herbáceas de florestas sub-tropicais apresentaram altos níveis de RN. Neste trabalho, foi observado um gradiente contínuo de declínio da atividade da RN a partir de plantas pioneiras para espécies-climax em 10 comunidades vegetais do sudeste da Austrália (Stewart et al, 1990).

Em relação ao comportamento assimilatório do  $\text{NO}_3^-$  em espécies associadas com micorrizas, cita-se que, espécies lenhosas do sudeste da Austrália com micorrizas do tipo ericóide ou com a combinação VAM/ectomicorriza, exibiram pouca capacidade de reduzir o nitrato nas raízes ou parte aérea (Stewart et al, 1993). Os autores consideram que provavelmente nesta associação, os fungos forneçam nitrogênio para o hospedeiro, através da quebra de nitrogênio orgânico insolúvel ou talvez a planta hospedeira utilize  $\text{NH}_4^+$  ao invés de  $\text{NO}_3^-$  como fonte de nitrogênio.

Contudo, existem poucas informações à respeito da presença ou significância da RN em raízes ou nas folhas de plantas de florestas tropicais em função da quantidade de luz ou em relação à disponibilidade de  $\text{NO}_3^-$  no solo. Stewart et al, (1988) pesquisando um grande n. de espécies pioneiras e de mata fechada, na floresta tropical Australiana, concluíram que espécies pioneiras possuem altos níveis da atividade da RN e eram predominantemente assimiladoras de nitrato pelas folhas, enquanto árvores do sub-bosque

tinham baixa atividade da RN nas raízes e parte aérea. Eles elaboraram a seguinte hipótese: desde que estas espécies possuam níveis de N semelhante, as espécies do sub-bosque assimilariam primariamente  $\text{NH}_4^+$  enquanto espécies pioneiras assimilariam primariamente  $\text{NO}_3^-$ .

Os estudos dos processos de redução e assimilação de  $\text{NO}_3^-$  são de extrema importância, pois são praticamente desconhecidas atualmente as exigências nutricionais, incluindo a demanda de nitrogênio de espécies florestais nativas. Em face das propostas de reflorestamentos, recomposição de paisagens e mesmo multiplicação de espécies nativas ameaçadas de extinção, existe a premente necessidade da realização de projetos de estudo de nutrição mineral de espécies florestais nativas com potencial para utilização em reflorestamentos.

Estudos sobre a fonte ideal de nitrogênio para a complementação mineral na fase de viveiro (Goi et al, 1986; Goi et al, 1987; Goi, 1993), bem como o levantamento de formas de translocação de nitrogênio na planta (Goi et al, 1984) tem sido realizados em espécies florestais. Entretanto, a caracterização do estágio sucessional no qual as espécies ocorrem nos ecossistemas, a identificação de formas predominantes de nitrogênio no solo, bem como a identificação de espécies da família Leguminosae com potencial para fixação de  $\text{N}_2$ , são etapas importantes a serem estudadas, que poderiam contribuir para o estabelecimento das necessidades nutricionais de cada espécie e consequentemente para aumentar o potencial de crescimento das espécies nativas.

## BIBLIOGRAFIA

- ADAMS, M.A. & ATTIWILL, P.M. (1982a). Nitrogen mineralization and nitrate reduction in forests. *Soil Biol. Biochem.* 14: 197-202.
- ADAMS, M.A. & ATTIWILL, P.M. (1982b). Nitrate reductase activity and growth response of forest species to ammonium and nitrate sources of nitrogen. *Plant Soil*, 66: 373-381.
- ANDREWS, M. (1986). The partitioning of nitrate assimilation between root and shoot of higher plants. *Plant, Cell and Environ.* 9:511-519.
- ANDREWS, M., FARIA, S.M. DE, MC INROY, S.G. AND SPRENT, J.I. (1990). Constitutive nitrate reductase activity in the Leguminosae. *Phytochem.*, 29: 49-54.
- ANDREWS, M., SUTHERLAND, J.M., THOMAS, R.J. & SPRENT, J.I. (1984). Distribution of nitrate reductase activity in six legumes: the importance of the stem. *New Phytol.*, 98:301-310.
- GOI, S.R. (1981). Ureídos em leguminosas tropicais: ocorrência e efeitos de fatores ambientais. Tese de Mestrado. Dept. de Solos, UFRRJ. Itaguaí, RJ, Brasil.
- GOI, S.R. (1993). Nitrogen nutrition of nodulated woody legumes. PhD thesis. University of Dundee. Dundee, Scotland, UK. 199pp.
- GOI, S.R., FARIA, S.M. DE & NEVES, M.C.P. (1984). Fixação de nitrogênio, tipo de nódulo e ocorrência de ureídos em leguminosas florestais. *Pesq. Agrop. Bras.* 19, 185-190.
- GOI, S.R., AMARO, M.A. & JACOB-NETO, J. (1986). Nodulação e estabelecimento em viveiro e no campo de mudas de *Albizia lebbek*. 5. Congresso Florestal Brasileiro. Olinda, PE. Anais, p. 71.
- GOI, S.R., AMARO, M.A. & JACOB-NETO, J. (1987). Estabelecimento de mudas de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. XXI Congresso Brasileiro de Ciência do solo, Campinas, SP. Resumos.
- GOI, S.R., SPRENT, J.I., JAMES, E.K. & JACOB-NETO, J. (1992). Influence of nitrogen form and concentration on the nitrogen fixation of *Acacia auriculiformis* Symbiosis, 14:115-122.
- GOJON, A., BUSSI, C., GRIGNON, C. & SALSAC, L. (1991). Distribution of  $\text{NO}_3^-$  reduction between roots and shoots of peach-tree seedlings as affected by  $\text{NO}_3^-$  uptake rate. *Physiol. Plant.*, 82:505-512.

- HUNTER, W. J. (1983). Soybean root and nodule nitrate reductase. *Physiol. Plant.*, 59: 471-475.
- LEE, R.B. (1980). Sources of reductant for nitrate assimilation in non-photosynthetic tissue: A review. - *Plant Cell Environ.* 3: 65-90.
- LEE, J.A. & STEWART, G.R. (1978). Ecological aspects of nitrogen assimilation. *Adv. Bot. Res.*, 6:1-43.
- MARSCHNER, H. (1989). Mineral nutrition of higher plants. Academic Press Ltda. 674pp.
- PATE, J.S. (1980). Transport and partitioning of nitrogenous solutes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 31:313-340.
- SMIRNOFF, N., TODD, P. & STEWART, G.R. (1984). The occurrence of nitrate reduction in the leaves of woody plants. *Ann. Bot.* 54:363-364.
- STEWART, G.R., GRACIA, C.A., HEGARTY, E.E. & SPECHT, R.L. (1990). Nitrate reductase activity and chlorophyll content in sun leaves of subtropical Australian closed-forest (rainforest) and open-forest communities. *Oecologia*, 82:544-551.
- STEWART, G.R., HEGARTY, E.E. & SPECHT, R.L. (1988). Inorganic nitrogen assimilation in plants of Australian rainforest communities. *Physiol. Plant* 74:26-33.
- STEWART, G.R., JOLY, C.A. & SMIRNOFF, N. (1992). Partitioning of inorganic nitrogen assimilation between the roots and shoots of cerrado and forest trees of contrasting plant communities of South East Brasil. *Oecologia*, 91:511-517.
- STEWART, G.R., PATE, J.S. & UNKOVICH, M. (1993). Characteristics of inorganic nitrogen assimilation of plants in fire-prone Mediterranean-type vegetation. *Plant Cell Environ.*, 13:351-363.
- Stewart, G.R., Pearson, J., Kershaw, J.L. & Clough, E.C.M. (1989). Biochemical aspects of inorganic nitrogen assimilation by wood plants. In: *Ann. Sci. For.* 46 suppl., 648s-653s. *Forest Tree Physiol.*
- WARNER, R.L. & KLEINHOFS, A. (1992). Genetics and molecular biology of nitrate metabolism in higher plants. *Physiol. Plant.*, 85:245-252.
- WINGSLE, G., NASHOLM, T., LUNDMARK, T. & ERICSON, A. (1987). Induction of nitrate reductase in needles of Scots pine seedlings by NO<sub>2</sub> and NO<sub>3</sub>-. *Physiol. Plant* 70:399-403.