

# EFEITO DO ALUMÍNIO E DA PROPORÇÃO NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> SOBRE A COMPOSIÇÃO DO NITROGÊNIO SOLÚVEL EM SORGO<sup>1/</sup>

José Cambraia<sup>2/</sup>

José E. Trejo Chandias<sup>3/</sup>

Renato Sant'Anna<sup>2/</sup>

Marcio de Moura Estevão<sup>2/</sup>

## 1. INTRODUÇÃO

O mecanismo da ação tóxica do alumínio, apesar do grande número de pesquisas realizadas, permanece essencialmente indefinido (7). Número crescente de evidências, entretanto, sugere um envolvimento do metabolismo nitrogenado na tolerância diferencial ao alumínio apresentada por algumas plantas.

A maior parte dos trabalhos tenta correlacionar a tolerância ao alumínio com a capacidade das plantas nutridas com NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e, ou, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> para modificar o pH das soluções nutritivas (7, 16). Outros trabalhos, entretanto, mostram que o alumínio influencia não somente os processos de absorção de nitrogênio (NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e, ou, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), como também redução de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e assimilação do N reduzido (5, 8), processos de síntese e, ou, degradação dos diversos compostos nitrogenados (6, 9, 13).

Em razão disso, desenvolveu-se o presente trabalho, com o objetivo de medir o efeito do alumínio, bem como da proporção NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, na solução nutritiva, sobre a quantidade e composição do nitrogênio solúvel.

<sup>1/</sup> Parte da tese apresentada à UFV, pelo segundo autor, como parte das exigências do curso de Mestrado em Fisiologia Vegetal. Pesquisa parcialmente financiada pelo CNPq.

Aceito para publicação em 29-02-1988.

<sup>2/</sup> Departamento de Biologia Geral da U.F.V. Viçosa, MG. Bolsistas do CNPq (1.<sup>º</sup> e 3.<sup>º</sup> autor).

<sup>3/</sup> Departamento Producción Vegetal, UNAH-CURLA, Apdo. 89, La Ceiba, Atlántida, Honduras, C.A.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Quatro plântulas de dois cultivares híbridos de sorgo (*Sorghum bicolor*, L. Moench), um tolerante (CMSxS-106) e outro sensível (CMSxS-903) ao alumínio, obtidas conforme descrito por CAMBRAIA *et alii* (1), foram transplantadas para vasos de polietileno que continham 1,6 litro de solução nutritiva de CLARK (4), pH 4,0, com 8 mmoles de N por litro, nas seguintes proporções de  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ : 100/0, 75/25, 50/50, 25/75 e 0/100. Nos sete primeiros dias, o pH foi ajustado diariamente para 4,0. Após esse crescimento inicial, as soluções nutritivas foram renovadas e as plantas submetidas a 0 e 5 ppm de alumínio, na forma de  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ . A partir desse dia e durante os seis dias de exposição das plantas ao alumínio, o pH não foi ajustado.

As plantas de cada tratamento, subdivididas em parte aérea e sistema radicular, foram lavadas com água desmineralizada, fragmentadas, imersas em etanol a 80%, fervente, para interrupção de sua atividade biológica, e armazenadas em congelador, a  $-20^\circ\text{C}$ , até processamento posterior.

A extração de N-solúvel das amostras seguiu, em linhas gerais, o método descrito por WANG e WAYGOOD (17). Inicialmente, tritou-se o material vegetal, em etanol a 80%, em homogeneizador, até a obtenção de polpa fina. Seguiram-se três extrações sucessivas com 25 ml de etanol a 80%, fervente, de uma hora cada uma. Os extratos alcoólicos das repetições experimentais foram combinados e submetidos à evaporação a vácuo, a  $45^\circ\text{C}$ , para eliminação do etanol e redução do volume. A suspensão resultante foi transferida para um funil de decantação, e os pigmentos e lipídios foram removidos por meio de quatro a cinco extrações com igual volume de clorofórmio.

A fase aquosa resultante foi evaporada a vácuo, a  $45^\circ\text{C}$ , até a secura, dissolvendo-se o resíduo em 25 ml de água desmineralizada. Após filtração, em papel Whatman n.º 1, armazenou-se o extrato em frascos hermeticamente fechados, em congelador, a  $-20^\circ\text{C}$ , até análise química posterior.

Em aliquotas dos extratos aquosos foram determinados os teores de N-solúvel total, após digestão sulfossilicílica das amostras, pela reação do fenol alcalino, conforme recomendado por CATALDO *et alii* (3); de  $\text{N-NH}_4^+$  livre, pela mesma reação anterior, sem, contudo, submeter as amostras à digestão; de  $\text{N-NO}_3^-$ , por nitração do ácido salicílico, conforme descrito por CATALDO *et alii* (2); e do N-aminoácido, por reação com ninhidrina, usando-se como padrão uma mistura sintética de 17 aminoácidos e amônia, na concentração de 2,5  $\mu\text{moles/ml}$  (15).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O peso da matéria fresca, na ausência do alumínio, foi maior no cultivar tolerante, nas duas partes da planta (Figura 1). Observou-se redução progressiva no peso da matéria fresca com o decréscimo da proporção  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  na solução nutritiva, na ausência e na presença do alumínio, tanto na parte aérea quanto no sistema radicular dos dois cultivares. No sistema radicular, a presença do alumínio reduziu muito o peso da matéria fresca, mas seu efeito diminuiu com a redução da proporção  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ . Na parte aérea, aconteceu algo semelhante, porém foi significativa a sensibilidade do cultivar sensível, na ausência do alumínio, ao aumento dos níveis de  $\text{NH}_4^+$ , na solução nutritiva.

Comparativamente, a redução na produção de matéria fresca, com a diminuição da proporção  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ , foi, de modo geral, mais intensa no sistema radicular do que na parte aérea, na presença, ou não, do alumínio. A crescente ação pre-

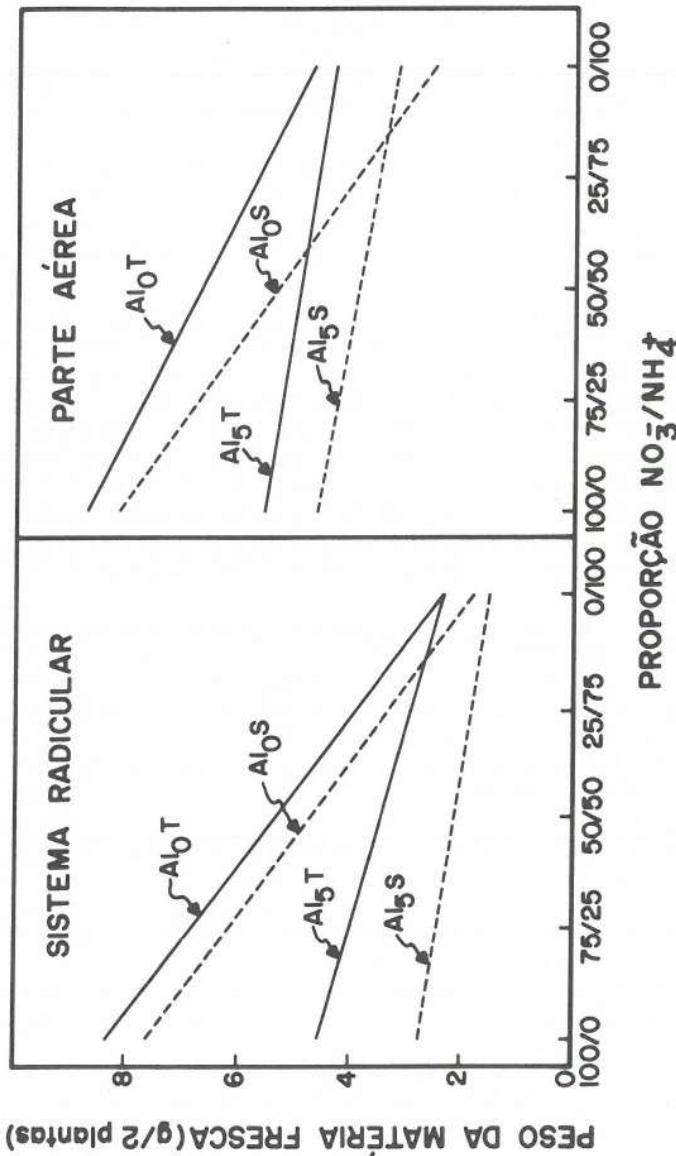


FIGURA 1 - Efeito do alumínio e da proporção NO<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> sobre o peso da matéria fresca (Al<sub>0</sub> = 0 ppm de alumínio; Al<sub>5</sub> = 5 ppm de alumínio; T = tolerante; S = sensível).

judicial do amônio sobre o crescimento do sistema radicular resultou, provavelmente, da gradativa acidificação do meio de cultivo, em decorrência dos processos de absorção e assimilação dessa forma de nitrogênio, de acordo com a sugestão da KOTZE *et alii* (12) e de KAFKAFY e NEWMAN (11). A esse respeito, MAYNARD *et alii* (14) observaram o desenvolvimento de sintomas de toxicidade de amônio nos sistemas radiculares de plantas de feijão submetidas a nutrição amoniacial, por falta de controle de pH. A correção desse parâmetro reduziu substancialmente esses efeitos tóxicos e resultou no crescimento normal das plantas.

A inclusão do alumínio na solução nutritiva reduziu ainda mais o crescimento, tanto da parte aérea quanto do sistema radicular dos dois cultivares, efeito que decresceu quando se aumentou a concentração de  $\text{NH}_4^+$  na solução nutritiva. Efeitos como esses, do alumínio, sobre plantas desenvolvidas em meios com diferentes níveis de amônio, são ainda pouco conhecidos. As plantas tendem a acidificar o meio de cultivo, desde que haja 10% ou mais de nitrogênio na forma de  $\text{NH}_4^+$  (1, 5, 16). E, provavelmente, assim sofrerão a ação maléfica da interação dos três íons:  $\text{Al}^{+++}$ ,  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{H}^+$ .

A percentagem de N-solúvel no nitrogênio total do sistema radicular, na ausência de alumínio, sofreu grande redução com a diminuição da proporção  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ , no cultivar sensível (Figura 2). No cultivar tolerante, ao contrário, aumentou até uma proporção de  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  entre 50/50 e 25/75, decrescendo a seguir. Na parte aérea, essa percentagem pouco se modificou no cultivar sensível, ao passo que no tolerante cresceu apenas ligeiramente com o decréscimo da proporção  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ . É interessante observar que em soluções nutritivas com 100% do N na forma de  $\text{NO}_3^-$  as plantas do cultivar sensível apresentaram maior percentagem de N-solúvel do que as do tolerante, principalmente no sistema radicular, mas a partir de soluções nutritivas com proporção  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  em torno de 75/25 a situação se inverteu.

Na presença do alumínio, a percentagem de N-solúvel no sistema radicular praticamente não se modificou no cultivar sensível, ao passo que no cultivar tolerante permaneceu inalterada até uma proporção  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  de 75/25, decrescendo a seguir. Com relação à parte aérea, o comportamento do cultivar tolerante foi semelhante, mas no sensível a percentagem do N-solúvel começou a crescer com proporção de  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  em torno de 75/25, até atingir cerca de 60% do N-total, permanecendo, então, constante.

O alumínio, pois, aumentou a solubilização do N no sistema radicular dos cultivares tolerante e sensível em soluções nutritivas com proporções  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  altas e baixas, respectivamente. Com relação à parte aérea, o comportamento do cultivar sensível, na presença do alumínio, foi o mesmo, mas o do tolerante, que, inicialmente, tendeu a aumentar a solubilização do N, inverteu-se a partir de soluções nutritivas com 50% de  $\text{NO}_3^-$  e 50% de  $\text{NH}_4^+$ .

O  $\text{N-NO}_3^-$ , que chegou a constituir cerca de 84% e 61% do N-solúvel do sistema radicular dos cultivares sensível e tolerante, respectivamente, decresceu rapidamente com a redução de sua concentração na solução nutritiva, sobretudo no cultivar sensível (Figura 3). Embora com menor intensidade na parte aérea, o alumínio reduziu a percentagem de  $\text{N-NO}_3^-$  nos dois cultivares, principalmente no sensível. Seu efeito foi máximo na solução nutritiva com 100% do N na forma de  $\text{NO}_3^-$ , decrescendo com a redução da proporção  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ , até praticamente desaparecer nas soluções com 100% do N na forma de  $\text{NH}_4^+$ . As reduções observadas na percentagem de  $\text{N-NO}_3^-$ , tanto na presença do alumínio quanto do  $\text{NH}_4^+$ , devem-se, muito provavelmente, a uma inibição da enzima redutase do nitrato, ligada ao processo de absorção e assimilação do nitrato, que se mostra sensível a ambos os

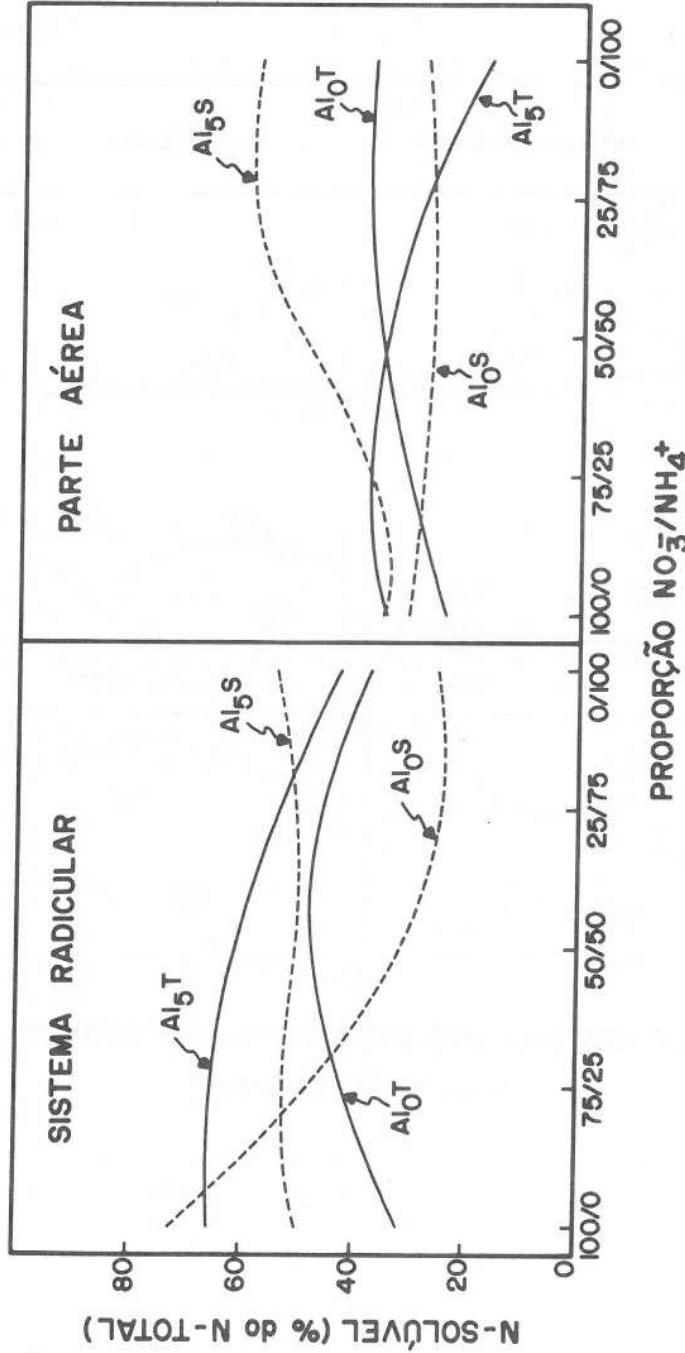


FIGURA 2 - Efeito do alumínio e da proporção  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  sobre a percentagem de nitrogênio solúvel ( $\text{Al}_5 = 0$  ppm de alumínio;  $\text{Al}_5 = 5$  ppm de alumínio; T = tolerante; S = sensível).

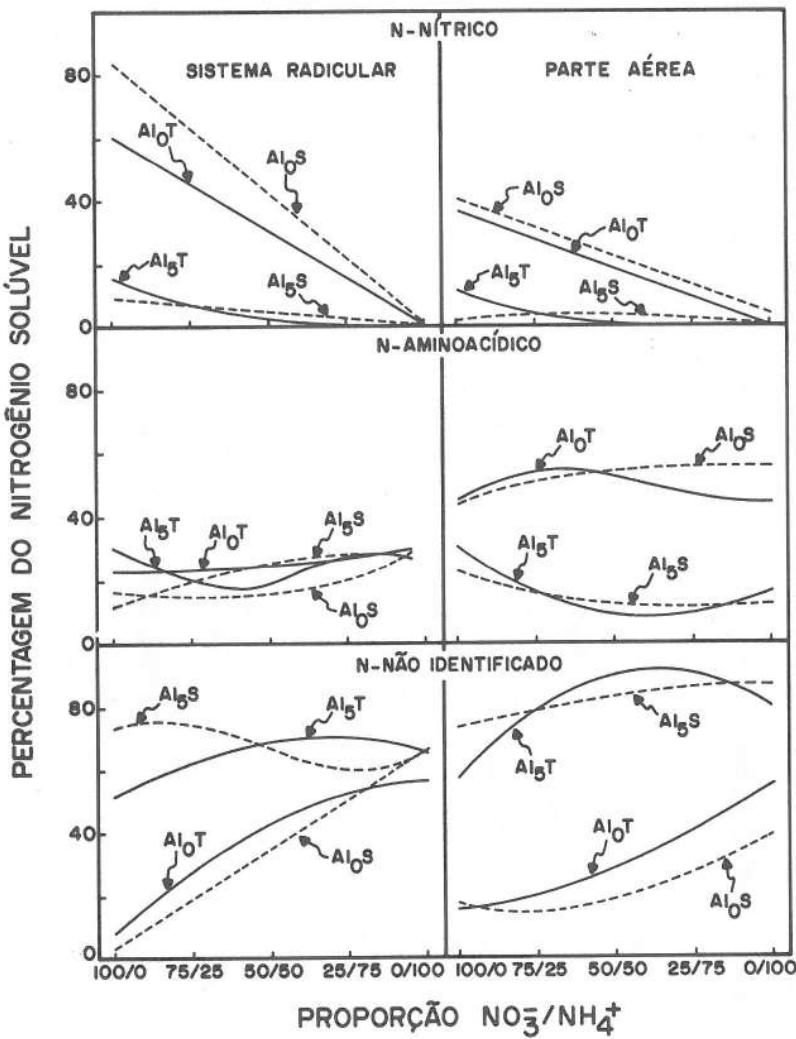


FIGURA 3 - Efeito do alumínio e da proporção  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  sobre a percentagem de N - nítrico, N - aminoacídico e N - não identificado ( $\text{Al}_0 = 0$  ppm de alumínio;  $\text{Al}_5 = 5$  ppm de alumínio; T = tolerante; S = sensível).

ions (8, 10), ou a uma inibição dos processos que provêm energia para a absorção ativa do nitrato (10).

A percentagem de N-aminoacídico no sistema radicular pouco se modificou com o decréscimo da proporção  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  da solução nutritiva, nos dois cultivares. O efeito do alumínio foi pequeno, mas os dois cultivares tiveram comportamento diferente: a percentagem de N-aminoacídico aumentou no sensível e decresceu no tolerante, nas proporções  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  intermediárias. Na parte aérea, a percentagem de N-aminoacídico aumentou ou decresceu com o decréscimo da proporção  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  da solução nutritiva, na ausência e na presença do alumínio, respectivamente, nos dois cultivares. O alumínio, por sua vez, reduziu fortemente o acúmulo de N-aminoacídico, principalmente nas proporções de  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  intermediárias.

A contribuição de formas não-identificadas de nitrogênio, na ausência do alumínio, de modo geral, foi pequena em soluções nutritivas com baixos níveis de  $\text{NH}_4^+$ , mas cresceu com o aumento do nível desse íon, atingindo valores bem altos, tanto no sistema radicular quanto na parte aérea dos dois cultivares (Figura 3). Na presença do alumínio, a contribuição dessas formas foi sempre grande e tendeu a aumentar com o decréscimo da proporção  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ , exceto no sistema radicular do cultivar sensível, onde, inicialmente, decresceu, voltando a crescer posteriormente. Não se fez nenhuma tentativa de identificar essas formas nitrogenadas, mas tudo indica que elas são importantes, principalmente quando as plantas são submetidas à ação do alumínio durante períodos mais prolongados. GOMES (9) não encontrou contribuição tão alta dessas formas; contudo, isso talvez não tenha acontecido porque a aplicação do alumínio, no caso, só foi feita 18 dias após o início do crescimento hidropônico, ao passo que, aqui, o alumínio foi aplicado desde o sétimo dia de crescimento hidropônico.

Aparentemente, o alumínio, além de interferir no processo de absorção e assimilação do nitrogênio, modifica o metabolismo vegetal, levando a planta a produzir compostos nitrogenados não-identificados, que podem ter alguma relação com a tolerância desses cultivares de sorgo a esse elemento.

A percentagem de  $\text{N-NH}_4^+$ , como era de esperar, foi baixa, em relação às outras formas nitrogenadas solúveis, sobretudo na parte aérea. No sistema radicular do cultivar sensível, na ausência do alumínio, aumentou numa taxa quase constante, conforme o nível de  $\text{NH}_4^+$  da solução nutritiva, ao passo que no cultivar tolerante, apesar de não ter variado no início, aumentou bruscamente a partir de uma proporção  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  de 75/25 e chegou a constituir cerca de 9% do N-solúvel (Figura 4). Na parte aérea, a percentagem de  $\text{N-NH}_4^+$  foi menor que no sistema radicular, principalmente no cultivar tolerante, em que permaneceu muito baixa, mesmo em soluções nutritivas com 100% de  $\text{N-NH}_4^+$ . Na presença do alumínio, a percentagem de  $\text{N-NH}_4^+$  do sistema radicular cresceu no cultivar sensível, mas variou pouco no cultivar tolerante. Na parte aérea, a percentagem de  $\text{N-NH}_4^+$  no cultivar tolerante decresceu até uma proporção  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  de 50/50, crescendo, depois, ligeiramente, enquanto no cultivar sensível o decréscimo foi pequeno, porém contínuo. Os resultados sugerem que a presença do alumínio reduziu a absorção e, ou, aumentou a incorporação de  $\text{N-NH}_4^+$ , o que resultou em menor percentagem desse íon na forma livre.

#### 4. RESUMOS E CONCLUSÕES

Os efeitos do alumínio e da proporção  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ , na solução nutritiva, sobre a produção de matéria fresca e sobre a composição do nitrogênio solúvel foram estudados em dois cultivares de sorgo.

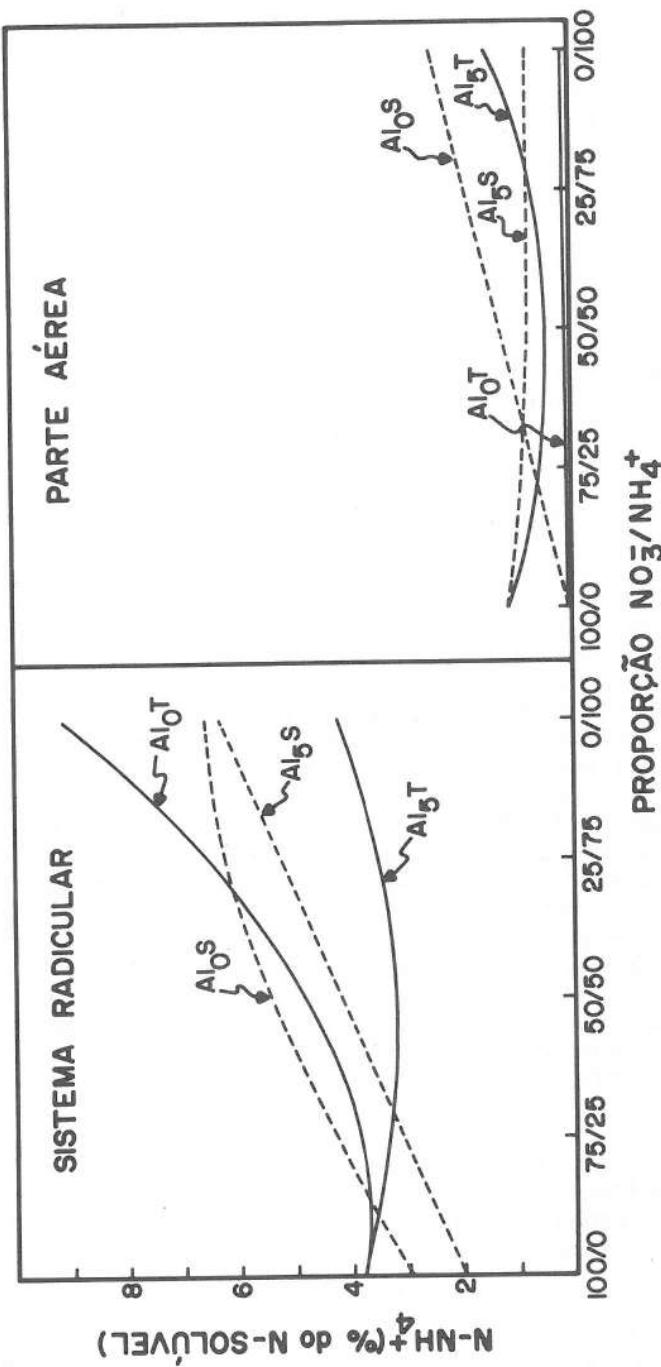


FIGURA 4 - Efeito do alumínio e da proporção  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  sobre a percentagem de  $\text{N-NH}_4^+$  ( $\text{Al}_0 = 0$  ppm de alumínio;  $\text{Al}_5 = 5$  ppm de alumínio; T = tolerante; S = sensível).

O alumínio reduziu drasticamente a produção de matéria fresca nas duas partes das plantas dos dois cultivares de sorgo, efeito que diminuiu com a redução da proporção  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ . A menor produção de matéria fresca ocorreu em soluções nutritivas com 100% do nitrogênio na forma de  $\text{NH}_4^+$  e na presença de  $\text{Al}^{+++}$ , situação em que as plantas ficaram expostas a níveis tóxicos de  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{Al}^{+++}$  e elevada acidez.

O alumínio, de modo geral, tendeu a aumentar a percentagem de nitrogênio solúvel nas duas partes da planta, embora esse efeito, às vezes, tenha variado com a proporção  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  na solução nutritiva. Seus efeitos principais sobre as formas nitrogenadas solúveis foram: decréscimo na percentagem de  $\text{N-NO}_3^-$  e N-aminoácídico (parte aérea) e aumento na percentagem de N-não identificado. O alumínio reduz, pois, a absorção de nitrogênio e modifica o metabolismo das plantas, levando-as a produzir compostos nitrogenados não-identificados, provavelmente relacionados com a sua tolerância ao alumínio.

### 5. SUMMARY

#### (THE EFFECT OF ALUMINUM AND THE $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ RATIO ON THE COMPOSITION OF SOLUBLE NITROGEN IN SORGHUM)

The effects of aluminum and of the  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ratio of the nutrient solution on the fresh matter yield and on the soluble nitrogen composition were studied in two sorghum cultivars.

Aluminum reduced drastically the fresh matter yield in the two parts of the plants of both cultivars, but its effect decreased with the  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ratio. The smallest yield occurred in nutrient solution with 100% of the nitrogen in the form of  $\text{NH}_4^+$  and in the presence of  $\text{Al}^{+++}$ , in which plants were exposed to toxic levels of  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Al}^{+++}$  and high acidity.

In general, aluminum showed a tendency to increase the % of soluble nitrogen in both parts of the plants, although this effect sometimes changed with the  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ratio. The major aluminum effects on the composition of the soluble nitrogen were a decrease in the  $\text{NO}_3^-$ -N and in the amino acid-N (tops) and an increase in the unidentified-N. It may be concluded that aluminum reduces nitrogen uptake and modifies plant metabolism so as to produce unidentified nitrogen compounds that are probably related to plant tolerance to aluminum.

### 6. LITERATURA CITADA

1. CAMBRAIA, J., CHANDÍAS, J.E.T., ESTEVÃO, M.M. & SANT'ANNA, R. Efeito do alumínio sobre o balanço iônico e a capacidade de plantas de sorgo modificarem o pH das soluções nutritivas. *Rev. Ceres*, 34:284-292. 1987.
2. CATALDO, D.A., HAROON, M., SCHRADER, L.E. & YOUNGS, V.L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 6:71-90. 1975.
3. CATALDO, D.A., SCHARDER, L.E. & YOUNGS, V.L. Analysis by digestion and colorimetric assay of total nitrogen in plant tissues high in nitrate. *Crop Sci.*, 14:854-856. 1974.
4. CLARK, R.B. Characterization of phosphatase of intact maize roots. *J. Agric. Food Chem.*, 23:458-460. 1975.

5. FLEMING, A.L. Ammonium uptake by wheat varieties differing in Al tolerance. *Agron. J.*, 75:726-730. 1983.
6. FOY, C.D. Effects of aluminum on plant growth. In: CARSON, E. W. (ed). *The Plant Root and its Environment*. Charlottesville, University Press of Virginia, 1974. p. 601-642.
7. FOY, C.D., CHANEY, R.L. & WHITE, M.C. The physiology of metal toxicity in Plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 29:511-566. 1978.
8. FOY, C.D., & FLEMING, A.L. Aluminum tolerances of two wheat genotypes related to nitrate reductase activities. *J. Plant Nutr.*, 5:1313-1333. 1982.
9. GOMES, M.M. *Efeito do alumínio sobre a composição da fração nitrogenada e sobre as formas de transporte de nitrogénio em dois cultivares de sorgo (Sorghum bicolor, L. Moench)*. Universidade Federal de Viçosa, 1983. 41 p. (Tese de Mestrado).
10. HAYNES, R.J. & GOH, K.M. Ammonium and nitrate nutrition of plants. *Biol. Rev.*, 53:465-510. 1978.
11. KAFKAFY, U. & NEWMAN, C.R. Root temperature and percentage  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  effect on tomato development. II. Nutrient composition of tomato plants. *Agron. J.*, 72:762-766. 1978.
12. KOTZE, W.A.G., SHEAR, C.B. & FAUST, M. Effect of nitrogen source and aluminum in nutrient solution on the growth and mineral nutrition of apple and peach seedlings. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 102:279-282. 1977.
13. MATSUMOTO, H., HIRASAWA, E., TORIKAI, H. & TAKAHASHI, E. Localization of absorbable aluminium in pea root and its binding to nucleic acids. *Plant Cell Physiol.*, 17:127-137. 1976.
14. MAYNARD, A.V., BARKER, A.V., & LACHMAN, W.H. Studies on the tolerance of plants to ammonium nutrition. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 94:234-239. 1969.
15. MOORE, S. & STEIN, W.N. Photometric method for use in the chromatography of amino acids. *J. Biol. Chem.*, 176:367-368. 1948.
16. TAYLOR, G.J. & FOY, C.D. Mechanisms of aluminum tolerance in *Triticum aestivum* (wheat). IV. The role of ammonium and nitrate nutrition. *Can. J. Bot.*, 63:2181-2186. 1985.
17. WANG, D. & WAYGOOD, E.R. Carbon metabolism of  $\text{C}^{14}$ -labeled amino acids in wheat leaves. I. A pathway of glyoxylateserine metabolism. *Plant Physiol.*, 37:826-832. 1962.