

Aspectos do crescimento e atividade da redutase do nitrato em plantas de *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby submetidas a diferentes fontes de nitrogênio

Patrícia Gaya de Carvalho¹, Marcos Pereira Marinho Aidar¹, Lilian Beatriz Penteado Zaidan¹ e Maria Angela Machado de Carvalho^{1,2}

Recebido: 05.07.2005; aceito: 05.01.2006

ABSTRACT - (Growth and activity of nitrate reductase in plants of *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby submitted to different nitrogen sources). *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby, Asteraceae from the Cerrado, bears underground organs (rhizophores) which accumulate inulin-type fructans and nitrate. Previous studies showed that 10 mM nitrate was the most efficient concentration for total plant biomass and fructan accumulation in the rhizophores. However, other nitrogen sources were not used. Thus, the aim of this project was to analyse and compare the effect of different nitrogen sources on growth of *V. herbacea*. The plants were treated with nutrient solutions containing ammonium ((NH₄)₂SO₄), nitrate (KNO₃) and a mixture of nitrate and ammonium (NH₄NO₃), both at a final concentration of 10 mM. No preference for the nitrogen source was observed when growth parameters were analysed. Therefore, the results suggest that plants of *V. herbacea* can be cultivated under any of the nitrogen sources used in this study.

Key words: ammonium, cerrado, nitrate, plant growth

RESUMO - (Aspectos do crescimento e atividade da redutase do nitrato em plantas de *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby submetidas a diferentes fontes de nitrogênio). *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby, Asteraceae do Cerrado, possui órgãos subterrâneos denominados rizóforos que armazenam frutanos do tipo inulina e nitrato em seus vacúolos. Experimentos anteriores mostraram que plantas tratadas com 10 mM de nitrato apresentaram melhor eficiência no acúmulo de biomassa total e no acúmulo de frutanos nos rizóforos. Entretanto, outras fontes de nitrogênio não foram testadas. Assim, este trabalho teve o objetivo de verificar a melhor fonte de nitrogênio no cultivo dessa espécie. As plantas foram submetidas ao cultivo com nitrato (KNO₃), amônio ((NH₄)₂SO₄) e a mistura de nitrato e amônio (NH₄NO₃), ambas na concentração de 10 mM. Os resultados mostraram que plantas dessa espécie não apresentaram preferência pela fonte nitrogenada indicando que o seu cultivo pode ser realizado sob qualquer uma das fontes nitrogenadas estudadas.

Palavras-chaves: amônio, cerrado, crescimento, nitrato

Introdução

O nitrogênio (N) é um elemento fundamental para as plantas (Pereira *et al.* 1981) e de baixa disponibilidade nos solos, principalmente nas áreas tropicais, onde é lixiviado, volatilizado e utilizado por microorganismos em maior velocidade do que nas zonas temperadas (Pimentel 1998). O N molecular (N₂), apesar de constituir mais de 78 % da atmosfera, só é utilizado por microorganismos fixadores de N₂. A maioria dos ecossistemas naturais e agrários apresenta um ganho expressivo da produtividade após a fertilização com nitrogênio inorgânico, o que demonstra a importância desse elemento para as plantas (Malavolta 1981).

As principais fontes de N disponíveis para as plantas terrestres são o nitrato (NO₃⁻) e o amônio (NH₄⁺). O NO₃⁻, absorvido pelas raízes, pode ser assimilado nesses órgãos ou nos órgãos aéreos, dependendo da sua disponibilidade e da espécie vegetal. No processo de assimilação, o NO₃⁻ é reduzido a nitrito (NO₂⁻) no citosol pela enzima redutase do nitrato (RN); posteriormente, o NO₂⁻ é reduzido a NH₄⁺ nos plastídeos da raiz ou nos cloroplastos pela enzima redutase do nitrito (Tischner 2000). O NH₄⁺ absorvido pela raiz ou produzido por assimilação do NO₃⁻, ou ainda originário da fotorrespiração, é convertido a glutamina e glutamato pela ação sequencial das enzimas glutamina sintetase e glutamato sintase, localizadas no citosol e nos plastídeos

1. Instituto de Botânica de São Paulo, Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, Caixa Postal 4005, 01061-970 São Paulo, Brasil
2. Autor para correspondência: mam.carvalho@gmail.com

das raízes ou nos cloroplastos (Bloom *et al.* 1992, Becker *et al.* 1993).

Os íons NH_4^+ e NO_3^- , liberados por decomposição da matéria orgânica do solo, tornam-se objeto de intensa competição entre microorganismos e plantas (Havlin *et al.* 1999), as quais desenvolveram mecanismos para capturar rapidamente esses íons a partir da solução do solo.

Sob concentrações elevadas de N no solo, que ocorrem após a fertilização, a absorção do NH_4^+ e do NO_3^- pelas raízes pode exceder a capacidade de uma planta em assimilar esses íons, levando ao acúmulo do nitrato, mas não do amônio, que é tóxico e não pode ser acumulado. Níveis altos de NO_3^- podem ser acumulados no vacúolo para posterior utilização ou podem ser translocados através dos tecidos sem efeitos prejudiciais (Lea *et al.* 1992). A maior parte do NH_4^+ na planta deve ser incorporada em N orgânico já na raiz, pois não pode permanecer livre na célula e nos tecidos.

Embora a maioria das plantas assimile preferencialmente o NO_3^- ao NH_4^+ (Forde 2000), em alguns casos observa-se o oposto. Portanto, é necessário encontrar o balanço adequado entre NO_3^- e NH_4^+ , para obter-se um ótimo crescimento e desenvolvimento. Na planta, a utilização do N é determinada por algumas variáveis, como eficiência da absorção de NO_3^- ou NH_4^+ , atividade da redutase do nitrato, estoque de NO_3^- , habilidade de mobilizar e translocar N para os órgãos dreno e adaptação à baixa disponibilidade de N no meio (Duncan & Baligar 1991).

O conhecimento sobre o comportamento vegetal quanto ao uso de nutrientes permite manusear ou modificar o sistema de cultivo para melhorar a eficiência na utilização de N. Alguns genótipos, por exemplo, têm melhor capacidade de absorção de N- NO_3^- , e outros, de N- NH_4^+ e produzem mais matéria seca por unidade de N aplicada; outros apresentam maior capacidade de mobilização de N das folhas e de outros órgãos para o grão; outros, ainda, são mais adaptados ao alto suprimento de N, enquanto outros são adaptados a baixos suprimentos (Vose 1990).

Estudos sobre nutrição mineral em espécies nativas do Cerrado são escassos e foram realizados principalmente com arbóreas, como *Qualea grandiflora* Mart. (Felippe & Dale 1990) e *Dalbergia miscolobium* Benth. (Paulilo & Felippe 1995, Sasaki & Felippe 1998) e, em menor número, com herbáceas, como *Bidens gardneri* Baker (Felippe & Dale 1990). Entretanto, a preferência

pela fonte de nitrogênio não foi abordada nesses trabalhos.

Estudos realizados com *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby, uma Asteraceae perene de Cerrado, mostraram que as plantas acumulam mais matéria seca aérea e subterrânea quando recebem soluções enriquecidas com nitrato (Cuzzuol *et al.* 2005, Carvalho 2005). Entretanto, a fonte preferencial de nitrogênio dessa espécie não foi investigada até o momento. Plantas de *V. herbacea* apresentam órgãos subterrâneos espessados de estrutura caulinar, denominados rizóforos, por meio dos quais a planta se reproduz vegetativamente. Os rizóforos atuam como órgãos de reserva para a planta, armazenando em seus tecidos grandes quantidades de frutanos (Carvalho & Dietrich 1993).

Os frutanos são polímeros de frutose originados da sacarose e consistem de séries homólogas de oligo- e polissacarídeos não redutores, em que cada membro da série contém um resíduo a mais de frutose que o membro anterior (Edelman & Jefford 1968, Pollock *et al.* 1996). Além da sua função de reserva, os frutanos parecem estar associados à resistência das plantas à seca e ao frio (Hendry & Wallace 1993, Livingston & Henson 1998 e Pilon-Smits *et al.* 1995, 1999), possivelmente devido à sua atuação na estabilização de membranas (Hinch *et al.* 2000, Vereyken *et al.* 2003).

Os frutanos são de grande interesse econômico devido às suas propriedades benéficas à saúde humana (Tomomatsu 1994). Segundo Coussemont & Franck (1998), esses carboidratos têm sido empregados com sucesso nos casos de constipação e na prevenção de doenças do intestino, por estimular a proliferação das bifidobactérias, e no controle da osteoporose, por estimular a absorção de cálcio. Além disso, os frutanos são utilizados como adoçantes alternativos de baixo teor calórico, pois não são absorvidos pelo organismo humano (Hidaka & Hirayama 1991).

Estudos de nutrição mineral para a adequação de tratamentos de adubação e fertilização visando à produtividade de plantas de interesse econômico são de extrema importância. Tendo em vista o teor elevado de frutanos em *V. herbacea*, este trabalho tem por objetivo analisar os efeitos do NO_3^- , NH_4^+ e da mistura dessas duas fontes de nitrogênio no crescimento e na alocação de biomassa, na atividade da redutase do nitrato nos rizóforos e folhas e na concentração de nitrogênio total nas folhas dessas plantas.

Material e métodos

Material vegetal e condições de crescimento - foram utilizadas plantas de *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby (Asteraceae) obtidas por propagação vegetativa a partir de fragmentos de rizóforos de plantas coletadas na Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji-Guaçu, São Paulo, em julho de 2004. Plantas de tamanho uniforme (cerca de 3 cm de altura) foram selecionadas dois meses após a brotação dos fragmentos de rizóforos cultivados em bandejas contendo quartzo umedecido com água destilada. As plantas foram transferidas para vasos plásticos (3 L), contendo o mesmo substrato, e submetidas às condições de luz, temperatura e fotoperíodo naturais, em casa de vegetação. As plantas foram separadas em três lotes, cada um com 38 plantas, e receberam semanalmente 150 mL de solução nutritiva contendo 0,5 mM K_2HPO_4 , 1,3 mM $NaSO_4$, 2,3 mM KCL, 2,5 mM $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ e 1,7 mM $MgSO_4 \cdot 7H_2O$. O primeiro lote foi enriquecido com 10 mM de KNO_3 , o segundo, com 5 mM de $(NH_4)_2SO_4$, e o terceiro com 5 mM de NH_4NO_3 . Todos os tratamentos foram suplementados com os sais de micronutrientes da solução de Hoagland (Hoagland & Arnon 1938) e o pH ajustado para 6,0-6,5 com KOH. Quando necessário, as plantas foram regadas com água destilada para evitar o dessecamento.

A primeira coleta de dados (T0) foi realizada em setembro, quando as plantas foram transferidas das bandejas para vasos individuais e passaram a receber as soluções nutritivas. As coletas seguintes foram realizadas mensalmente, 30 (outubro), 60 (novembro), 90 (dezembro) e 120 (janeiro) dias após o início do tratamento. As análises de crescimento, quantificação de nitrato e determinação da atividade da redutase do nitrato foram realizadas em seis plantas, coletadas aleatoriamente, constituindo cada uma, uma replicata. As plantas foram analisadas quanto à altura do caule, número de folhas, área foliar e massa de matéria fresca e seca aérea e subterrânea. Para determinação da massa de matéria seca, os ramos aéreos e amostras de rizóforos foram colocados em estufa a 60 °C até massa constante. A área foliar foi estimada pela equação da curva de regressão linear $y = 0,2737 + 0,7158x$, onde x equivale ao produto do comprimento pela largura das folhas, com um coeficiente de correlação de 0,9658 (Carvalho *et al.* 1997).

Os parâmetros derivados de crescimento, taxa de crescimento relativo (TCR), razão de área foliar (RAF) e taxa de assimilação líquida (TAL) foram

calculados de acordo com Hunt (1982) e com uma ferramenta de software (Hunt *et al.* 2002). A força de dreno aparente foi calculada em função da taxa de incremento de massa seca dos rizóforos (massa final dos rizóforos – massa inicial dos rizóforos) / (t2 – t1), conforme Schubert & Fuerle (1997).

Ensaio da atividade da redutase do nitrato (RN) - a atividade da redutase do nitrato foi determinada pelo método de Stewart *et al.* (1986) em folhas e rizóforos. Amostras dos tecidos frescos (0,1 g) foram colocadas em tubos de ensaio com tampão fosfato de potássio 50 mM pH 7,5 contendo 100 mM de nitrato de potássio, 1,5% de 1-propanol e triton para análise das folhas, e contendo 50 mM de nitrato de potássio e 1,0% de 1-propanol para análise dos rizóforos. Em seguida, os tecidos foram submetidos à infiltração a vácuo para retirada do ar. As amostras foram então incubadas a 25 °C por 1 h, no escuro. Da mistura de incubação, retirou-se 1 mL, sendo adicionados 1 mL de ácido sulfanílico 1% e 1 mL de α -naphthil etileno diamida (NED) 0,05%, para coloração do produto formado, o nitrito. Após repouso de 30 min em temperatura ambiente, a absorbância foi lida em espectrofotômetro a 540 nm.

Determinação do nitrogênio total (NT) - o NT foi determinado pelo método de Malavolta *et al.* (1987) e realizado no Departamento de Solos e Nutrição da ESALQ-USP. Amostras de 0,1 g de massa seca de folhas foram colocadas em um tubo digestor com 5 mL de uma mistura de ácido sulfúrico e sais catalisadores. A temperatura foi elevada de 50 °C a cada 30 min até 350 °C. Após a digestão, foi adicionado um volume de NaOH 15 N, suficiente para neutralizar o ácido e deixar o meio alcalino. Em seguida, foi adicionado ácido bórico como solução indicadora. A absorbância da mistura resultante foi lida em espectrofotômetro a 410 nm.

Análise estatística - os efeitos dos tratamentos foram analisados por ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5%, no software Winstat.

Resultados e Discussão

Os resultados apresentados na figura 1 mostram um aumento nos parâmetros de crescimento avaliados nas plantas cultivadas com nitrato (KNO_3), amônio ($(NH_4)_2SO_4$) e a mistura de nitrato e amônio (NH_4NO_3), ao longo do período de observações.

Durante os meses de tratamento, tanto a área foliar quanto a massa seca aérea não apresentaram

diferenças significativas entre os tratamentos. Entretanto, foi possível observar que as plantas tratadas com nitrato mostraram maior massa seca aérea e de rizóforos no terceiro mês do período experimental. Em relação à área foliar, os tratamentos com amônio e a mistura nitrogenada propiciaram maior área foliar em relação ao tratamento com nitrato.

Em cultura de batata, Cao & Tibbitts (1992), usando uma mistura de nitrato e amônio, constataram que esse tratamento aumentou a massa seca e a área foliar, quando comparado aos tratamentos contendo somente nitrato ou amônio. Na presença de nitrato as plantas cresceram melhor do que sob amônio, mas ao

final do experimento, não apresentaram massa seca total superior à daquelas que receberam a mistura nitrogenada.

Outros estudos realizados com plantas cultivadas revelaram diferenças quanto à preferência pela fonte nitrogenada. A batata-doce, por exemplo, apresentou maior número de tubérculos quando tratada com pequenas concentrações de NO_3^- (Kim *et al.* 2002). Duas cultivares de arroz (IAC-4440 e IAC-120), tratadas com NH_4^+ , produziram maior número de grãos por planta (Silveira & Machado 1990). Por outro lado, a alfafa apresentou maior crescimento e maior número de folhas quando recebeu a mistura de NO_3^- e NH_4^+ (Meuriot *et al.* 2003).

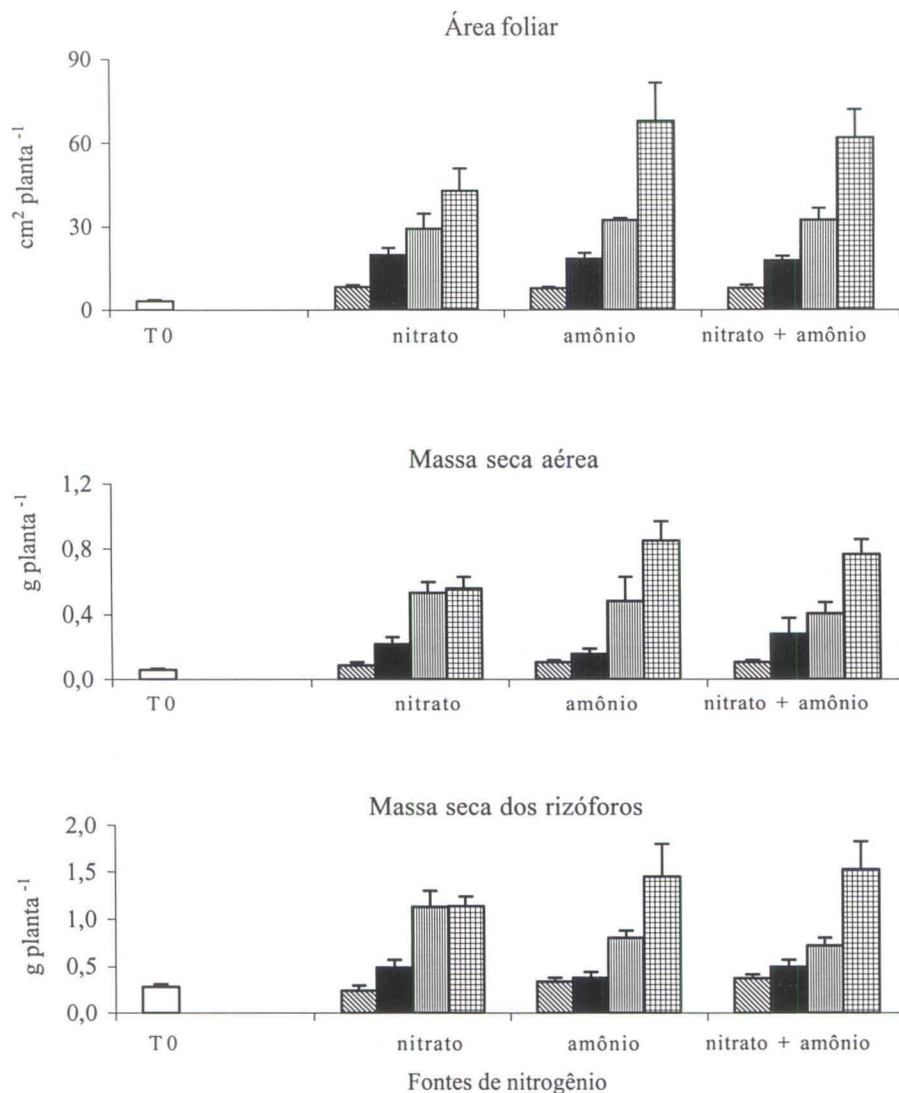


Figura 1. Medidas de crescimento de plantas de *V. herbacea* tratadas com 10 mM de KNO_3 (nitrato), 5 mM de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (amônio) e 5 mM de NH_4NO_3 (nitrato + amônio). Determinação realizada no material inicial T0 □ e 1 mês ▨, 2 meses ■, 3 meses ▤ e 4 meses ▩ após o início do tratamento. Os dados representam médias de seis repetições ($n = 6$) e as barras representam o erro padrão. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos dentro de cada tempo.

Com relação aos parâmetros derivados de crescimento, TCR, RAF e TAL (figura 2), observou-se que, no primeiro período analisado (0 a 30 dias), as plantas tratadas com nitrato apresentaram a maior TCR, seguindo-se uma queda contínua até o final do experimento. As plantas tratadas com soluções nutritivas contendo apenas amônio ou a mistura nitrogenada apresentaram valores similares entre si e mais baixos, ao longo do período analisado.

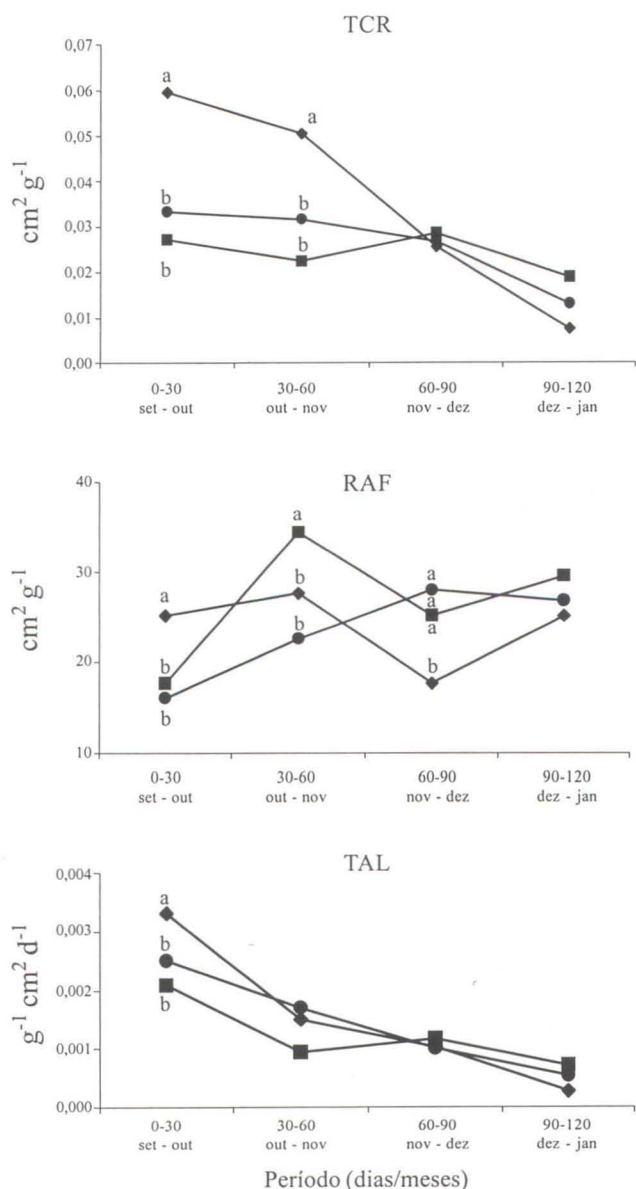


Figura 2. Taxa de crescimento relativo (TCR), razão de área foliar (RAF) e taxa de assimilação líquida (TAL) em plantas de *V. herbacea* tratadas com 10 mM de KNO₃, 5 mM de (NH₄)₂SO₄ e 5 mM de NH₄NO₃. ◆ nitrato, ● amônio, e ■ nitrato + amônio. Os dados representam médias de seis repetições (n = 6). Diferenças significativas entre os tratamentos, quando existentes, são indicadas por letras diferentes (p < 0,05).

De acordo com Poorter (2002), a TCR reflete o incremento de produção de massa de matéria seca em um determinado intervalo de tempo. Dessa forma, foi possível observar que as plantas que receberam nitrato como fonte de nitrogênio apresentaram inicialmente maior ganho de matéria seca. Entretanto, a produção de matéria seca foi decrescendo após o segundo mês, até se igualar aos outros dois tratamentos. A queda gradual da TCR, verificada em todos os tratamentos, apresentou padrão semelhante ao que é detectado na maioria das plantas, ou seja, o incremento de massa tornou-se proporcionalmente decrescente em relação à massa total do indivíduo. Portanto, quanto maior a sua massa total, menor a taxa de crescimento (Beadle 1993).

Segundo Lambers *et al.* (1998), as respostas de crescimento à adição de nutrientes em plantas nativas refletem uma pequena elevação da TCR, indício de que as plantas possuem baixo potencial de TCR. Baixa TCR é considerada por Grime & Hunt (1975) uma estratégia de sobrevivência de plantas de ambientes menos férteis. Segundo Chapin (1980, 1988), tais plantas, quando cultivadas em solos mais férteis, acumulam os nutrientes ao invés de aproveitá-los imediatamente, vindo a utilizá-los mais tarde, quando sua disponibilidade for limitante, o que corrobora os resultados encontrados em plantas de *V. herbacea*.

Os tratamentos com nitrogênio causaram variações na RAF (figura 2), que é uma medida da eficiência da planta como produtora de área assimiladora. As plantas tratadas com nitrato apresentaram um valor de RAF significativamente maior no início do experimento, quando comparadas às que receberam outras fontes de nitrogênio. As plantas tratadas com a mistura nitrogenada mostraram incremento significativo no segundo período de crescimento, mas ao final do período analisado, as plantas sob os três tratamentos não diferiram significativamente entre si.

A TAL (figura 2), que mede a eficiência da planta como produtora de matéria seca, foi mais elevada nas plantas tratadas com nitrato e apenas no início do experimento. Entretanto, ao final, plantas de todos os tratamentos apresentaram valores semelhantes.

Valores mais elevados de TAL, encontrados no início do experimento para as plantas dos três tratamentos de nitrogênio, sugerem que nesta fase as plantas utilizam recursos originados do rizóforo. De fato, no início do crescimento de plantas de *V. herbacea*, o rizóforo atua como fonte de carbono,

mobilizando os frutanos deste órgão para o crescimento dos órgãos aéreos (Asega & Carvalho 2004).

Com base nas características adaptativas para os teores de nutrientes no solo, Chapin (1980, 1988) classificou as espécies nativas em dois grupos: Tipo I - espécies de crescimento lento que, quando cultivadas com maior suprimento nutricional, acumulam nutrientes que podem ser utilizados quando as condições nutricionais forem limitantes, e Tipo II - espécies de crescimento rápido que respondem ao maior suprimento de nutrientes, aumentando a taxa de crescimento, especialmente da parte aérea. Dessa forma, de acordo com a classificação de Chapin (1980, 1988), plantas de *V. herbacea* podem ser consideradas como espécie do Tipo I, pois apresentaram baixos valores de TCR, RAF e TAL. Resultados semelhantes foram obtidos por Cuzzuol *et al.* (2005) em plantas de *V. herbacea* tratadas com nitrato.

Considerando os valores significativamente mais elevados de TCR, RAF e TAL no início do experimento em plantas tratadas com nitrato, sugere-se a utilização de soluções nutritivas contendo nitrato no início do cultivo de *V. herbacea*. Posteriormente, para a manutenção da cultura, pode-se recomendar o uso de soluções nutritivas contendo a mistura nitrogenada. A fim de testar essa sugestão, foi analisada a força de dreno aparente nas plantas, aqui representada pelos rizóforos. A força de dreno aparente, que mede a capacidade potencial do órgão em atrair e armazenar fotoassimilados, encontra-se ilustrada na figura 3. Os resultados demonstraram que as diferentes fontes de nitrogênio, nos primeiros 60 dias de tratamento, não levaram a diferenças no acúmulo desses compostos. Entre 60 e 90 dias de aplicação semanal das soluções nutritivas, ocorreram diferenças entre os tratamentos que evidenciaram maior acúmulo de compostos nos rizóforos das plantas tratadas com nitrato. Entretanto, entre 90 e 120 dias, as plantas tratadas com nitrato apresentaram diminuição na força de dreno aparente, enquanto as plantas que receberam amônio e a mistura nitrogenada apresentaram maior capacidade de acúmulo de compostos.

Segundo Marcelis (1996), a força de dreno de um órgão é diretamente proporcional à sua taxa de crescimento, e resulta em aumento do tamanho do dreno. Em *V. herbacea*, os rizóforos, são órgãos especializados para o acúmulo de frutanos (Carvalho & Dietrich 1993) e com o aumento da biomassa subterrânea e da força aparente do dreno, esses terão maior capacidade de armazenar tais carboidratos.

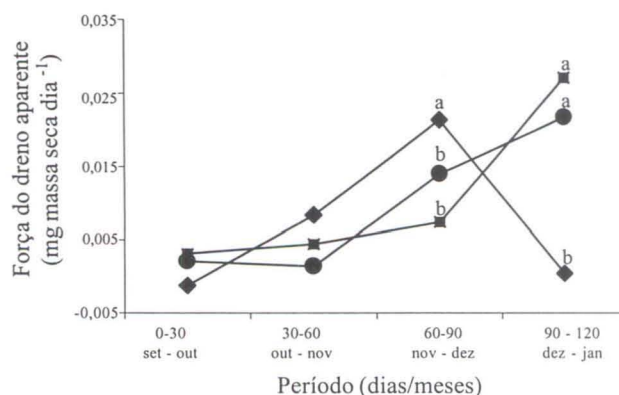


Figura 3. Força do dreno aparente em rizóforos de plantas de *V. herbacea* tratadas com 10 mM de KNO_3 , 5 mM de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e 5 mM de NH_4NO_3 . ♦ nitrato, ● amônio e ■ nitrato + amônio. Os dados representam médias de seis repetições ($n = 6$). Diferenças significativas entre os tratamentos, quando existentes, são indicadas por letras diferentes ($p < 0,05$).

A RN (figura 4) apresentou maior atividade nas folhas do que nos rizóforos em plantas tratadas com nitrato, sugerindo o potencial de indução dessa enzima pelo substrato, como já demonstrado em várias leguminosas (Sprent 1994). A atividade da RN em folhas de plantas tratadas com nitrato foi mais elevada do que sob os demais tratamentos, possivelmente devido à maior disponibilidade de nitrato translocado para as folhas, conforme indicado por Stewart & Schmidt (1998).

Segundo Dose *et al.* (1997), a maioria das espécies reduz o nitrato a nitrito pela ação da RN, nas folhas. Essa enzima requer compostos redutores, como o NAD(P)H, provenientes da fotossíntese. Dessa forma, a ação da RN nas folhas é favorecida, já que em raízes e outros órgãos subterrâneos há necessidade da translocação e oxidação de carboidratos para a atividade dessa enzima (Aidar *et al.* 2003).

Nos rizóforos, a atividade da RN (figura 4) foi mais baixa do que nas folhas e semelhante em todos os tratamentos, não havendo diferenças na atividade ao longo dos meses. Isso sugere que a atividade da RN no rizóforo seja constitutiva neste órgão, ou seja, a enzima funcional está presente sem a necessidade da indução pelo substrato.

Pimentel (1998) sugeriu uma estratégia de adaptação de plantas a condições de baixa disponibilidade de N. Segundo esse autor, a rápida absorção e acúmulo de nitrato para posterior utilização durante o desenvolvimento ocorrem quando a

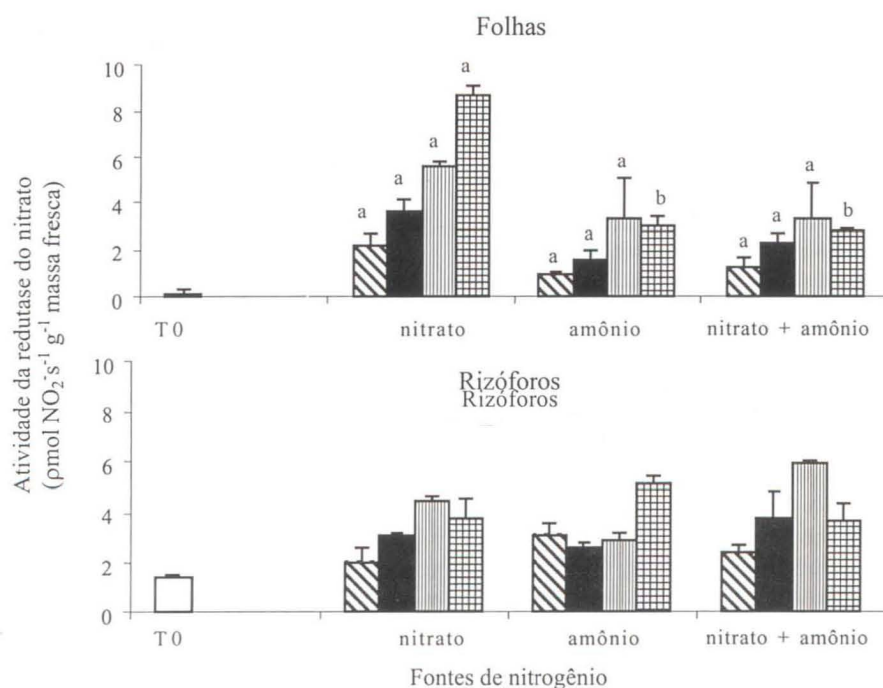


Figura 4. Atividade da redutase do nitrato em folhas e rizóforos de plantas de *V. herbacea* tratadas com 10 mM de KNO_3 (nitrato), 5 mM de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (amônio) e 10 mM de NH_4NO_3 (nitrato + amônio). Determinação realizada no material inicial T0 \square e 1 mês ▨ , 2 meses \blacksquare , 3 meses ▤ e 4 meses ▩ após o início do tratamento. Os dados representam médias de seis repetições ($n = 6$) e as barras representam o erro padrão. Diferenças significativas entre os tratamentos, quando existentes, são indicadas por letras diferentes ($p < 0,05$).

disponibilidade do nutriente diminui. No Cerrado, a diminuição da disponibilidade de N inorgânico pode ocorrer por lixiviação pelas chuvas e pelo uso crescente do nutriente pelos microorganismos do solo, portanto é razoável assumir que a estocagem, para uso posterior, ocorre quando a oferta do nutriente para a planta é elevada.

A análise do conteúdo de nitrogênio total nas folhas não mostrou diferenças significativas entre os tratamentos. Os valores encontrados foram de 1,78%, 1,91% e 1,95% em plantas tratadas respectivamente com nitrato, amônio e a mistura nitrogenada e estão de acordo com os dados relatados para a maioria das espécies cultivadas, entre 1,35 e 6% da massa seca total da planta (Marschner 1995). Entretanto, no presente estudo considerou-se apenas a massa seca foliar. Como os rizóforos apresentam concentrações mais elevadas de nitrato (cerca de 2,5 vezes) do que as folhas (Carvalho 2005), é provável que a concentração de nitrogênio total em função da massa seca total da planta seja mais elevada.

Cuzzuol *et al.* (2005) observaram que a força de dreno em plantas de *Vernonia herbacea* foi estimulada pela concentração mais elevada de N ($10,7 \text{ mmol L}^{-1}$), que promoveu também o aumento da massa seca do

rizóforo. O autor verificou que as plantas que receberam mais N também apresentaram concentração inferior de frutanos nos rizóforos, quando comparadas às que receberam menos N ($1,3 \text{ mMol L}^{-1}$). Contudo, resultados obtidos por Carvalho (2005) revelaram que plantas submetidas à concentração de 10 mM de nitrato apresentaram resultados semelhantes aos de Cuzzuol *et al.* (2005), exceto no que se refere ao teor de frutanos. Assim, estudos futuros deverão considerar, além do controle das condições experimentais, a fase de desenvolvimento das plantas.

Os resultados obtidos no presente trabalho, referentes ao crescimento, incremento de biomassa de rizóforos e força de dreno, permitem concluir que as plantas de *Vernonia herbacea* podem ser cultivadas sob as três fontes de nitrogênio. Entretanto, considerando o melhor crescimento das plantas tratadas com nitrato no início do período, recomenda-se inicialmente o uso do N na forma desse composto e, posteriormente, a aplicação da mistura nitrogenada de amônio e nitrato.

Agradecimentos

À FAPESP, pelo apoio financeiro (BIOTASP processo 98/05124-8) e pela bolsa concedida a Patrícia

G. Carvalho (processo 02/11226-5) e ao CNPq, pela bolsa de Produtividade em Pesquisa a Lilian B.P. Zaidan.

Literatura citada

- Aidar, M.P.M., Schmidt, S., Moss, G., Stewart, G.R. & Joly, C.A.** 2003. Nitrogen use strategies of neotropical rainforest trees in threatened Atlantic Forest. *Plant, Cell and Environment* 26: 389-399.
- Asega, A.F. & Carvalho, M.A.M.** 2004. Fructan metabolizing enzymes in rhizophores of *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby upon excision of aerial organs. *Plant Physiology and Biochemistry* 42: 313-319.
- Beadle, C.L.** 1993. Growth analysis. *In*: D.O. Hall, J.M.O. Scurlock, H.R. Bolhar-Nordenkampf & R.C. Leegood (eds.). *Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual*. Chapman and Hall, London, pp. 36-46.
- Becker, T.W., Perrot-Rechenmann, C., Suzuki, A. & Hirel, B.** 1993. Subcellular and immunocytochemical localization of the enzymes involved in ammonia assimilation in mesophyll and bundle-sheath cells of maize leaves. *Planta* 191: 129-136.
- Bloom, A.J., Sukapanna, S.S. & Warner, R.L.** 1992. Root respiration associated with ammonium and nitrate absorption and assimilation by barley. *Plant Physiology* 99: 1294-1301.
- Cao, W. & Tibbits, T.W.** 1992. NH_4/NO_3 mixtures enhance growth in potatoes. *HortScience, Alexandria*, v. 27, 177 p.
- Carvalho, M.A.M. & Dietrich, S.M.** 1993. Variation in fructan content in the underground organs of *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby at different phenological phases. *New Phytologist* 123: 735-740.
- Carvalho, M.A.M., Dietrich, S.M.C. & Zaidan, L.B.P.** 1997. Growth and fructan content of plants of *Vernonia herbacea* (Asteraceae) regenerated from rhizophores. *New Phytologist* 136: 153-161.
- Carvalho, P.G.** 2005. Efeito do nitrogênio no crescimento e metabolismo de frutanos em plantas de *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby. Dissertação de Mestrado, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 103 p.
- Chapin, F.S. III.** 1980. The mineral nutrition of wild plants. *Annual Review of Ecology Systematics* 11: 233-260.
- Chapin, F.S. III.** 1988. Ecological aspects of plant mineral nutrition. *In*: B. Tinker & A. Läuchli (eds.). *Advances in Plant Nutrition*. Praeger, New York, v. 3, pp. 161-191.
- Coussement, P. & Franck, A.** 1998. New food application for inulin. *Agro-food-industry Hi-Tech* 9: 26-28.
- Cuzzuol, G.R.F., Carvalho, M.A.M. & Zaidan, L.B.P.** 2005. Growth, photosynthese partitioning and fructan accumulation in plants of *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby under two nitrogen levels. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17:273-281.
- Dose, M.M., Hirasawa, M., Kleis-Sanfrancisco, S., Lew, E.L. & Knaff, D.B.** 1997. The ferredoxin-binding site of ferredoxin: nitrite oxidoreductase. *Plant Physiology* 114: 1047-1053.
- Duncan, R.R. & Baligar, V.C.** 1991. Genetic and physiological basis of nutrient uptake and use efficiency: an overview. *In*: R.R. Duncan & V.C. Baligar (eds.). *Crops as enhancers of nutrient use*. Academic Press, New York, pp. 238-282.
- Edelman, J. & Jefford, T.G.** 1968. The mechanism of fructosan metabolism in higher plants as exemplified in *Helianthus tuberosus*. *New Phytologist* 67: 517-531.
- Felippe, G.M. & Dale, J.E.** 1990. The effects of phosphate supply on growth of plants from Brazilian Cerrado: experiments with seedlings of the annual weed, *Bidens gardneri* Baker (Compositae) and the tree, *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae). *Oecologia* 82: 81-86.
- Forde, B.G.** 2000. Nitrate transporters in plants: structure, function and regulation. *Biochimica et Biophysica Acta* 1465: 219-235.
- Grime, J.P. & Hunt, R.** 1975. Relative growth-rate: its range and adaptive significance in a local flora. *Journal of Ecology* 63: 393-422.
- Havlin, J.L., Beaton, J.D., Tisdale, S.L. & Nelson, W.L.** 1999. *Soil fertility and fertilizers*. 6 ed. Prentice Hall, New Jersey, 499 p.
- Hendry, G.A.F. & Wallace, R.K.** 1993. The origin, distribution and evolutionary significance of fructans. *In*: M. Suzuki & J.N. Chatterton (eds.). *Science and technology of fructans*. CRC Press, Boca Raton, pp. 119-139.
- Hidaka, H. & Hirayama, M.** 1991. Useful characteristics and commercial applications of fructo-oligosaccharides. *Biochemical Society Transactions* 19: 561-565.
- Hincha, D.K., Hellwege, E.M., Heyer, A.G. & Crowe, J.H.** 2000. Plant fructans stabilize phosphatidylcholine liposomes during freeze-drying. *European Journal of Biochemistry* 267: 535-534.
- Hoagland, D.R. & Arnon, D.I.** 1938. The water-culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experimental Station. Circ. No. 347*.
- Hunt, R.** 1982. *Plant growth curves: the functional approach to plant growth analysis*. Edward Arnold Publishers, London, 80 p.
- Hunt, R., Causton, D.R., Shipley, B. & Askew, A.P.** 2002. A modern tool for classical plant growth analysis. *Annals of Botany* 90: 485-488.
- Kim, S-H., Mizuno, K., Sawada, S. & Fujimara, T.** 2002. Regulation of tuber and ADP-glucose pyrophosphorylase (AGPase) in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) by nitrate. *Plant Growth Regulation* 37: 207-213.

- Lambers, J., Chapin, F.S. & Pons, T.L.** 1998. Plant Physiological Ecology. Springer-Verlag, New York, 540 p.
- Livingston, D.P. & Henson, C.A.** 1998. Apoplastic sugars, fructan exohidrolase, and invertase in winter oat: response to second-phase cold hardening. *Plant Physiology* 116: 403-408.
- Malavolta, E., Vitti, G.C. & De Oliveira, S.A.** 1997. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2 ed. Potafos, Piracicaba, 319 p.
- Malavolta, E.** 1981. Manual de química agrícola – Adubos e adubação. Ceres, São Paulo, 596 p.
- Marcelis, L.F.M.** 1996. Sink strength as a determinant of dry matter partitioning in the whole plant. *Journal of Experimental Botany* 47: 1281-1291.
- Marschner, H.** 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, Orlando, 649 p.
- Meuriot, F., Avice, J-C., Decau, M-L., Simon, J-C, Lainé, P., Volenec, J.J. & Ourry, A.** 2003. Accumulation of N reserves and vegetative storage protein (VSP) in taproots of non-nodulated alfafa (*Medicago sativa* L.) are affected by mineral N availability. *Plant Science* 165: 709-718.
- Paulilo, M.T.S. & Felipe, G.M.** 1995. Resposta de plântulas de *Qualea grandiflora* Mart., uma espécie arbórea de cerrado, à adição de nutrientes minerais. *Revista Brasileira de Botânica* 18: 109-112.
- Pereira, P.A.A., Baldani, J.I., Blana, R.A.G. & Neyra, C.A.** 1981. Assimilação e translocação de nitrogênio em relação à produção de grãos e proteínas em milho (*Zea mays* L.). *Revista Brasileira de Ciências do Solo* 5: 28-31.
- Pilon-Smits, E.A.H., Ebskamp, M.J.M., Paul, M.J., Jeuken, M.J.W., Weisbeek, P.J. & Smeekens, S.C.M.** 1995. Improved performance of transgenic fructan-accumulating tobacco under drought stress. *Plant Physiology* 107: 125-130.
- Pilon-Smits, E.A.H., Terry, N., Sears, T. & Van Dun, K.** 1999. Enhanced drought resistance in fructan-producing sugar beet. *Plant Physiology and Biochemistry* 37: 313-317.
- Pimentel, C.** 1998. Metabolismo de carbono na agricultura tropical. EDUR, Rio de Janeiro, 159 p.
- Pollock, C.J., Cairns, A.J., Sims, I.M. & Housley, T.L.** 1996. Fructans as reserve carbohydrates in crop plants. *In: E. Zamski & A.A. Shaffer, (eds.). Photoassimilate distribution in plants and crops: source-sink relationships.* Marcel Dekker Inc, New York, pp. 97-113.
- Poorter, H.** 2002. Plant growth and carbon economy. *Encyclopedia of Life Sciences*, pp. 1-6. <http://www.els.net> (acesso em 20.11.2004).
- Sasaki, R.M. & Felipe, G.M.** 1998. Response of *Dalbergia miscolobium* Benth. seedlings, a cerrado tree species, to mineral nutrients supply. *Revista Brasileira de Botânica* 21: 65-72.
- Schubert, S. & Fuerle, R.** 1997. Fructan storage in tubers of Jerusalem artichoke: characterization of sink strength. *New Phytologist* 136: 115-122.
- Silveira, J.A.G. & Machado, E.C.** 1990. Mobilização de nitrogênio e de carboidratos durante o desenvolvimento de panículas de duas cultivares de arroz. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 2: 37-46.
- Sprent, J.I.** 1994. Nitrogen acquisition systems in the Leguminosae. *In: J.I. Sprent & D. McKey (eds.). Advances in Legume Systematics. The nitrogen factor.* Royal Botanic Gardens, Kew, v.5, pp.1-16.
- Stewart, G.R., Popp, M., Holzapfel, I., Stewart, J.I. & Dickie-Eskew, A.** 1986. Localization of nitrate reduction in ferns and its relationship to environmental and physiological characteristics. *New Phytologist* 104: 373-384.
- Stewart, G.R. & Schmidt, S.** 1998. Evolution and ecology of plant mineral nutrition. *In: M.C. Press, J.D. Scholes & M.G. Barker (eds.). Physiological plant ecology.* Blackwell Science, Oxford, pp. 91-113.
- Tischner, R.** 2000. Nitrate uptake and reduction in higher and lower plants. *Plant, Cell and Environment* 23: 1005-1024.
- Tomomatsu, H.** 1994. Health effects of oligosaccharides. *Food Technology* 48: 61-65.
- Vereyken, I.J., Van Kuik, A.J., Evers, T.H., Rijken, P.J. & Kruijff, B.** 2003. Structural requirements of the fructan-lipid interaction. *Biophysical Journal* 84: 3147-3154.
- Vose, P.B.** 1990. Plant nutrition relationships at the whole-plant level. *In: V.C. Baligar & R.R. Duncan (eds.). Crops as enhancers of nutrient use.* Academic Press, San Diego, pp. 65-80.

