

---

# Atividade da redutase de nitrato em folhas e raízes de espécies nativas dos campos ferruginosos em resposta à deposição nitrogenada

Geisy de Cássia Lopes<sup>1</sup>, Jane Eyre Casarino<sup>2</sup>, Alessandra Rodrigues Kozovits<sup>3</sup>

## Resumo

A atividade da enzima redutase de nitrato (ARN) tem sido usada como parâmetro bioindicador de fertilização do solo e de poluição atmosférica nitrogenada. Por ocorrer sobre solos rasos e pobres em nitrogênio, e devido ao alto grau de endemismo, a vegetação dos campos ferruginosos é potencialmente suscetível aos impactos de tal poluição. Neste trabalho, avaliou-se a ARN em folhas e raízes de três espécies nativas dos campos ferruginosos submetidas à fertilização no solo e nas folhas. As raízes se mostraram mais responsivas à fertilização em *Matayba marginata* Radlk e *Byrsonima variabilis* A. Juss., mas não em *Eremanthus incanus* (Less.) Less. De maneira geral, as espécies apresentaram maior ARN quanto fertilizadas nas folhas e demonstraram que a vegetação de canga é sensível à deposição atmosférica de N.

Palavras chave: poluição atmosférica, nitrogênio, campos ferruginosos, atividade de redutase de nitrato.

## Abstract

Nitrate reductase activity (NRA) has been used as a bioindicator parameter of soil fertilization and nitrogen atmospheric pollution. Occurring on shallow and nitrogen poor soils, and due to the high degree of endemism, vegetation in ferruginous rocky outcrops (canga) is potentially susceptible to impacts of this kind of pollution. In this study we evaluated the NRA in leaves and roots of three indigenous species under soil or leaf fertilization treatments. Roots were more responsive to fertilization in *Matayba marginata* Radlk and *Byrsonima variabilis* A. Juss., but not in *Eremanthus incanus* (Less.) Less. In general, the species presented higher NRA when fertilized on leaves and showed that canga vegetation is sensitive to atmospheric nitrogen deposition.

Keywords: atmospheric pollution, nitrogen, ferruginous rocky outcrops, nitrate reductase activity.

---

<sup>1</sup> Bióloga. Universidade Federal de Ouro Preto. Departamento de Biodiversidade, Evolução e Meio Ambiente.

<sup>2</sup> Mestre em Ecologia – programa de Ecologia de Biomas Tropicais – Universidade Federal de Ouro Preto.

<sup>3</sup> Doutora. Universidade Federal de Ouro Preto. Departamento de Biodiversidade, Evolução e Meio Ambiente, Laboratório de Ecofisiologia Vegetal.

---

## Introdução

O nitrogênio é um elemento considerado limitante do crescimento de grande parte das comunidades vegetais nos trópicos e subtropicais, e atualmente, tem sido disponibilizado para as plantas em quantidades duas vezes maiores que as observadas na década de 50. De acordo com Galloway *et al.* (2004), a deposição de N deve continuar a aumentar em resposta as atividades agropecuárias, especialmente ao cultivo de leguminosas fixadoras de N, aplicação de fertilizantes nitrogenados e queima de biomassa vegetal, além das atividades industriais (VITOUSEK *et al.*, 1997). Formas nitrogenadas emitidas pelas atividades antrópicas como NO, N<sub>2</sub>O, NH<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub> e seus produtos de reação (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e HNO<sub>3</sub>) possuem grande mobilidade na atmosfera, e podem ser depositados sobre a superfície terrestre a centenas de quilômetros das suas fontes (ASMAN 1998, FABIAN *et al.*, 2005). Os poucos estudos realizados no Brasil até o momento relatam que quantidades de nitrogênio tão grandes quanto às encontradas no hemisfério norte têm sido depositadas sobre áreas de vegetação nativa na região sudeste do país (KRUSCHE *et al.*, 2003), entretanto pouco se conhece sobre as consequências de tal fertilização na vegetação.

A magnitude do impacto da deposição atmosférica de nitrogênio deve variar entre os ecossistemas, porém, espera-se que seja especialmente relevante em condições

de solos distróficos, onde a maior parte das espécies vegetais possui baixos requerimentos de N (PITCAIRN *et al.*, 2006). De forma geral, espera-se que o aumento da disponibilidade de N no ambiente acelere o crescimento das plantas, caso outros limitantes não estejam presentes. Entretanto, há espécies, chamadas de nitrofilas, que são capazes de crescer mais rapidamente que outras em resposta ao nutriente, e desta forma, tendem a excluir competitivamente as espécies não-nitrofilas. Tal comportamento foi observado em estudo de longo prazo de fertilização de áreas de cerrado senso restrito (BUSTAMANTE *et al.*, 2012). Os autores verificaram redução da diversidade de espécies herbáceas e subarborescentes, além da invasão de espécie exótica em resposta à adição de N e P. Os campos ferruginosos seriam potencialmente um dos sistemas mais afetados no Brasil, por possuírem solos rasos, oligotróficos e com baixa capacidade de retenção de água (FERREIRA & MAGALHÃES, 1977), o que selecionou espécies eficientes na captura de recursos limitantes.

Minas Gerais representa a terceira maior economia do país, sendo sua produção baseada principalmente nas atividades agropecuárias e nas indústrias siderúrgicas (FUNDAÇÃO JOÃO PINHEIRO, 1999). Essas atividades resultam na emissão de grandes quantidades de óxidos de nitrogênio (NO<sub>x</sub>) e amônia (FLUES, 2002) que são devolvidas à superfície terrestre através da deposição seca e úmida (chuva ácida).

---

Surge então, a necessidade de estudos que buscam elucidar as respostas da vegetação nativa aos aumentos da concentração de N via deposição atmosférica.

Ao longo do tempo evolutivo, inúmeros mecanismos foram selecionados pelas plantas para aumentar a eficiência de captação e uso de diferentes formas de nitrogênio disponíveis no solo e na atmosfera (NIEVOLA & MERCIER, 2001; MARTHA JUNIOR *et al.*, 2009). Em geral, o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) é considerado uma das mais importantes fontes nitrogenadas, mesmo em solos ácidos, onde o amônio predomina (KOZOVITS *et al.*, 1996). O processo de redução do  $\text{NO}_3^-$  no interior da planta, envolve duas etapas catalisadas pelas enzimas redutase de nitrato (RN) e redutase de nitrito (RNi), sendo a primeira delas, considerada a enzima-chave na assimilação de nitrogênio em plantas superiores (NIEVOLA & MERCIER, 2001) e provavelmente representa o passo limitante na incorporação desse nutriente (CAMPBELL, 1988). Em função de sua importância, essa enzima tem sido freqüentemente utilizada como indicadora de estresses e de outras mudanças associadas aos fatores moduladores do crescimento das plantas (SRIVASTAVA 1980). Sua atividade pode refletir prontamente as variações nas condições ambientais, especialmente a disponibilidade de seu substrato (TISCHNER, 2000; CALATAYUD *et al.*, 2007).

Estudos comprovam a eficiência da redutase (RN) de nitrato para um diagnóstico precoce da poluição ambiental.

Tripathi & Gautam (2007) verificaram que a atividade da RN em *Mangifera indica*, *Cassia fistula* e em híbridos de eucalipto respondeu à poluição atmosférica nitrogenada muito antes que sintomas visuais na folha e no crescimento das plantas pudessem ser observados. O  $\text{NO}_3$  pode entrar diretamente pelas superfícies das folhas ou ser absorvido pelas raízes; e neste contexto, este poluente pode induzir a atividade da enzima redutase de nitrato, que atua como um mecanismo de detoxificação (MÜLLER *et al.*, 2007). Assim, estes efeitos podem ser usados para quantificar o estresse produzido pela poluição atmosférica em plantas bioindicadoras, pois há relação entre a atividade da RN e as concentrações ambientais do poluente (STULEN *et al.*, 1998; RAYA-RODRIGUEZ, 2000; SIEGWOLF *et al.*, 2001).

No Brasil, são escassos os estudos da atividade RN em plantas nativas, e inexistem informações sobre as respostas à poluição nitrogenada. Estudos pioneiros com espécies pertencentes a diferentes grupos funcionais (fixadoras de N, não-fixadoras e acumuladoras de Al) crescendo em condições naturais em cerrado sensu stricto indicaram uma grande variação na atividade de RN nas folhas, sugerindo que dentro de um mesmo bioma, as plantas devam divergir quanto à suas habilidades de absorção e uso de recursos (KOZOVITS *et al.*, 1996). Aidar *et al.* (2003), em um estudo na Mata Atlântica observaram que, em geral, as pioneiras apresentam maiores valores de atividade de redutase de nitrato que espécies tardias, enquanto as espécies de estágios sucessionais intermediários apresentam atividades que

variam entre os valores extremos. Entretanto, estes estudos não permitem concluir sobre a capacidade total de absorção e uso de  $\text{NO}_3^-$  pelas plantas, pois não foram mensuradas as atividades da enzima nas raízes. Bustamante *et al.* (1995) trabalhando com plântulas de duas leguminosas nativas do cerrado crescendo *in vitro*, encontraram maior atividade média nas raízes que em folhas de *Dalbergia miscolobium* Benth, enquanto o contrário foi observado em *Pterodon polygalaeflorus* Benth.

Conhecer as respostas dessa enzima em folhas e raízes de espécies vegetais nativas é de extrema importância, oferecendo ferramenta para auxiliar a compreensão da dinâmica de populações em respostas às mudanças globais, mais especificamente, em resposta à deposição atmosférica de nitrogênio.

## Objetivos

Avaliar a contribuição relativa da atividade de redutase de nitrato em raízes

e folhas de espécies lenhosas de remanescentes de campos ferruginosos em Ouro Preto, MG, para a identificação de estratégias de uso de N e escolha de órgãos mais sensíveis ao aumento da disponibilidade de N nestes sistemas. Comparar as respostas das plantas à fertilização nitrogenada sobre o solo e por aspersão sobre as folhas em diferentes horários do dia, com o intuito de se verificar a sensibilidade relativa das espécies à poluição atmosférica nitrogenada.

## Materiais e métodos

### Área de estudo e espécies vegetais

O estudo foi realizado entre fevereiro e outubro de 2008 em uma área remanescente de campo ferruginoso situada no Campus Morro do Cruzeiro da Universidade Federal de Ouro Preto (FIG. 1).



Foto: Geisy Lopes

FIGURA 1 – Área de estudo. Campo ferruginoso situado no Campus Morro do Cruzeiro da Universidade Federal de Ouro Preto.

---

Em um estudo preliminar, em dezembro de 2007, a atividade de redutase de nitrato foi mensurada em folhas de 10 espécies. A partir dos resultados, foram escolhidas três espécies representativas de grupos funcionais no uso de nitrogênio, sendo *Eremanthus incanus* (Less.) Less (Asteraceae, FIG. 2A) a espécie com maiores valores de atividade de RN, *Byrsonima variabilis* A. Juss. (Malpighiaceae, FIG. 2B, 2C) com valores intermediários e *Matayba marginata* Radlk (Sapindaceae, FIG. 2D) apresentando os menores valores. Para o presente estudo, seis indivíduos de cada uma destas espécies foram escolhidos, sendo três submetidos ao tratamento de fertilização e três pertencentes ao grupo controle (sem fertilização).

### **Experimentos de fertilização e atividade da redutase de nitrato**

Para a realização do ensaio enzimático, em cada indivíduo, quatro folhas maduras e expostas nas direções N, S, L e O da copa foram coletadas e imediatamente lavadas com água destilada para eliminação de poeira e outros contaminantes. Com auxílio de um furador de 6 mm de diâmetro, amostras circulares das folhas foram retiradas, pesadas, cortadas em 4 partes e colocadas em seringa de polietileno com 5 ml de tampão fosfato 0,05 M, pH 7,5, 1% (v/v) n-propanol, 50 mM KNO<sub>3</sub> (atividade potencial), ou sem adição de KNO<sub>3</sub> (atividade real), onde sofreram infiltração sob vácuo. Uma amostra de 1ml foi retirada (T0), e a seringa colocada para incubar no

escuro e anaerobiose durante 60 minutos, quando nova amostra de 1 ml foi retirada (T60). A atividade foi determinada em termos da quantidade de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> produzido após a reação com sulfanilamida e N-naftil-etileno diamino (NNED), resultando em coloração rosa. A absorbância foi lida a 540 nm em espectrofotômetro. A atividade real (sem adição de nitrato ao tampão) representa a capacidade de redução com os níveis internos de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no momento da coleta, enquanto a atividade potencial (com adição de nitrato ao tampão) traduz a capacidade de indução da enzima pela maior oferta do substrato. A comparação entre as duas atividades pode indicar as espécies com maiores habilidades de responder ao aumento da disponibilidade de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no ambiente servindo, portanto, como melhores indicadoras da poluição nitrogenada. Os indivíduos fertilizados receberam a dosagem de 30 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>. O nitrogênio foi aplicado na forma de nitrato de amônio diluído em água destilada. Os indivíduos do controle receberam apenas a adição de água destilada na mesma quantidade aplicada nos indivíduos fertilizados.

### **Atividade da redutase de nitrato em folhas e raízes após fertilização do solo**

Meia hora após a fertilização no solo, fragmentos de raízes finas foram coletados, lavados com água destilada para retirar as impurezas. Em seguida retirou-se a camada externa das raízes e pesou-se 100 mg dos fragmentos que, logo após, foram



Fotos: A e D) Elisa Silva Cândido, B) Maria Cristina Messias, C) Alessandra Kozovits

FIGURA 2 – Espécies vegetais selecionadas para o estudo.  
A) Indivíduo adulto de *Eremanthus incanus* (Less.) Less. em floração.  
B) Detalhes da floração e  
C) de frutos de *Byrsonima variabilis* A. Juss.  
D) Ramo de *Matayba marginata* Radlk com resquícios de frutos.

---

cortados e colocados nas seringas para se determinar a atividade da redutase de nitrato radicular (pelo mesmo procedimento descrito para as folhas). Em adição, ARN foi também mensurada em folhas dos mesmos indivíduos.

Outra forma de simulação da deposição atmosférica de nitrogênio foi por aspersão sobre as folhas dos três indivíduos das parcelas fertilizadas, da mesma solução de nitrato de amônio que normalmente foi lançada sobre o solo, simulando a deposição atmosférica úmida de chuva ou de névoa de 30 kg N ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>. Os indivíduos do grupo controle receberam apenas aspersão de água destilada. Cerca de trinta minutos após o evento de fertilização que ocorreu às 9h30min, quatro folhas desses indivíduos foram coletadas e levadas ao laboratório para a mensuração da ARN. O mesmo ocorreu às 12 e às 14 h. A intenção, ao se realizar esse experimento, foi de comparar as respostas das plantas em termos da atividade de RN à deposição atmosférica incidente diretamente sobre as lâminas foliares e sobre os solos em diferentes horários.

A distribuição dos dados foi avaliada através do teste de Jaque Bera e os dados caracterizados como não normais foram logaritimizados. Diferenças entre os grupos controle e fertilizado foram testadas através do Teste T de Student e as diferenças entre as atividades de redutase de nitrato real e potencial, entre as espécies, e em diferentes horários foram verificadas através de Análise de Variância (ANOVA),

com Post-Hoc de Tukey ao nível de 10%. As análises foram realizadas com o programa SPSS 10.0.

## Resultados

### Atividade da redutase de nitrato em folhas e raízes

*Byrsonima variabilis* A. Juss. apresentou os valores mais elevados de atividade real de redutase de nitrato nas folhas, seguida de *Eremanthus incanus* (Less.) Less, que apresentou atividade real somente sob fertilização. As folhas de *Matayba marginata* Radlk não demonstraram ARN real nem mesmo após a adição de nitrogênio (FIG. 3, 4 e 5). Com relação às raízes, a atividade real não diferiu entre *E. incanus* e *M. marginata* ( $p>0,1$ ), ambas apresentando baixa atividade tanto no controle quanto sob fertilização nitrogenada. Por outro lado, a ARN nestas espécies diferiu da apresentada por raízes de *B. variabilis*, que foi significativamente maior ( $p<0,1$ ; FIG. 4).

Ao contrário do observado acima, a atividade potencial em folhas foi maior em *E. incanus*, seguida de *B. variabilis* e *M. marginata*. Nas raízes, *B. variabilis* e *M. marginata* mostraram maior atividade potencial que *E. incanus*.

Comparando-se os grupos controle e fertilizado, as médias das ARN potencial e real, tanto foliares quanto radiculares, não foram significativamente distintas ( $p>0,1$ ).

Exceção foi encontrada apenas na atividade real de *E. incanus*, a qual foi maior no controle.

A razão entre a atividade potencial foliar e radicular indica diferenças significativas ( $p < 0,1$ ) entre os locais preferenciais de redução de nitrato entre as espécies. De

forma geral, *Matayba marginata* e *B. variabilis* apresentam maiores ARN nas raízes que em folhas, enquanto o contrário foi observado em *E. incanus*. Com relação à atividade real, não houve diferenças significativas ( $p > 0,1$ ) das razões entre as espécies (GRÁF. 1, 2 e 3).

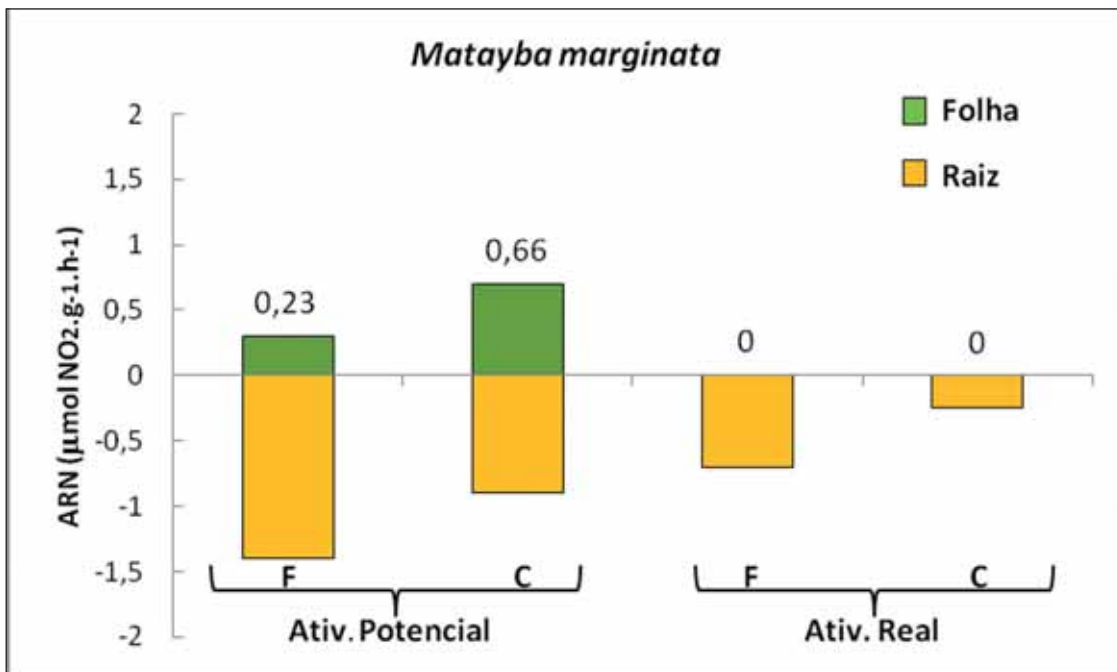


GRÁFICO 1 – ARN média em folhas e raízes de *Matayba marginata*. Os valores acima das barras representam a razão entre a ARN foliar e radicular. (C = controle; F = fertilizado).

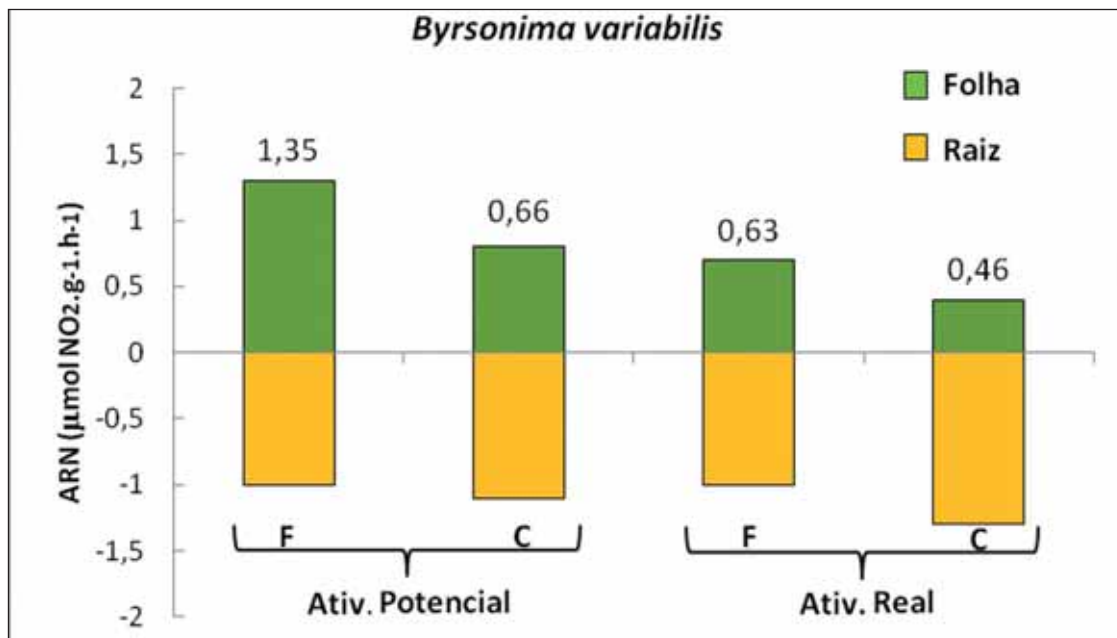


GRÁFICO 2 – ARN média em folhas e raízes de *Byrsonima variabilis*. Os valores acima das barras representam a razão entre a ARN foliar e radicular. (C = controle; F = fertilizado).



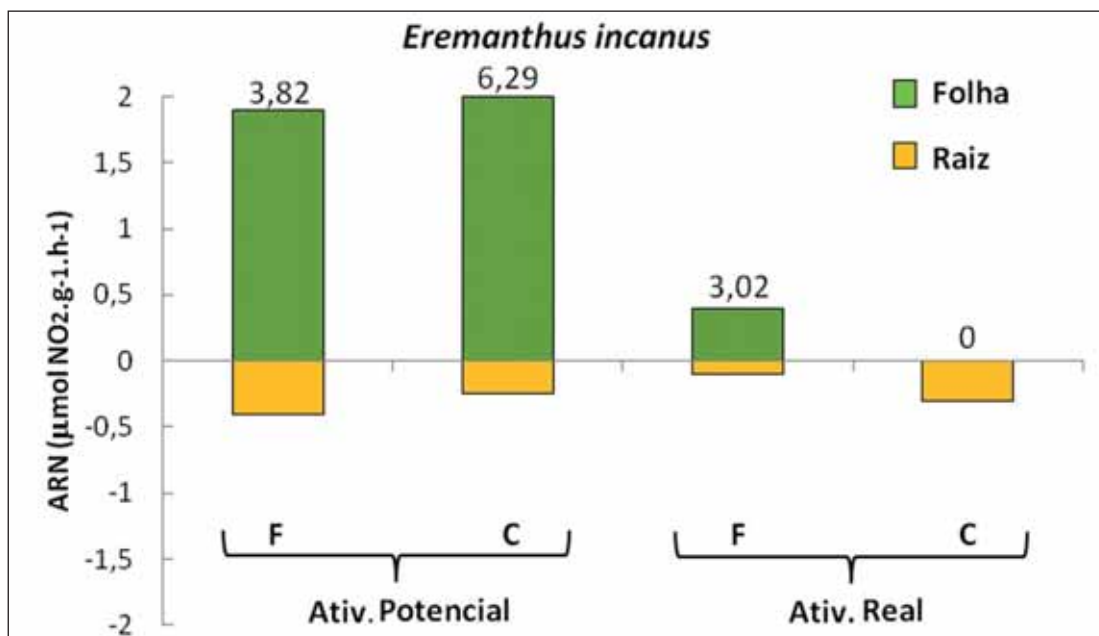


GRÁFICO 3 – ARN média em folhas e raízes de *Eremanthus incanus*. Os valores acima das barras representam a razão entre a ARN foliar e radicular. (C = controle; F = fertilizado).

### Curso diário da redutase de nitrato após fertilização sobre as folhas

Com a fertilização sobre as lâminas foliares, simulando a deposição atmosférica de nitrogênio, foi observado que a atividade real de *M. marginata* foi estatisticamente diferente ( $p < 0,1$ ) nos grupos controle e fertilizado nos horários de 10h e 12h, sendo maior nos indivíduos fertilizados. Às 14h não foram constatadas

diferenças significativas ( $p > 0,1$ ), o mesmo ocorrendo com a atividade potencial de RN em todos os horários nos dois tratamentos (GRÁF. 4). Em *B. variabilis* as atividades real e potencial diferiram entre os indivíduos controle e fertilizados apenas às 10h ( $p < 0,1$ ; GRÁF. 5). Em *E. incanus* essa distinção ocorreu com a atividade real às 10h, que se elevou em indivíduos fertilizados, e com a atividade potencial às 12h (GRÁF. 6).

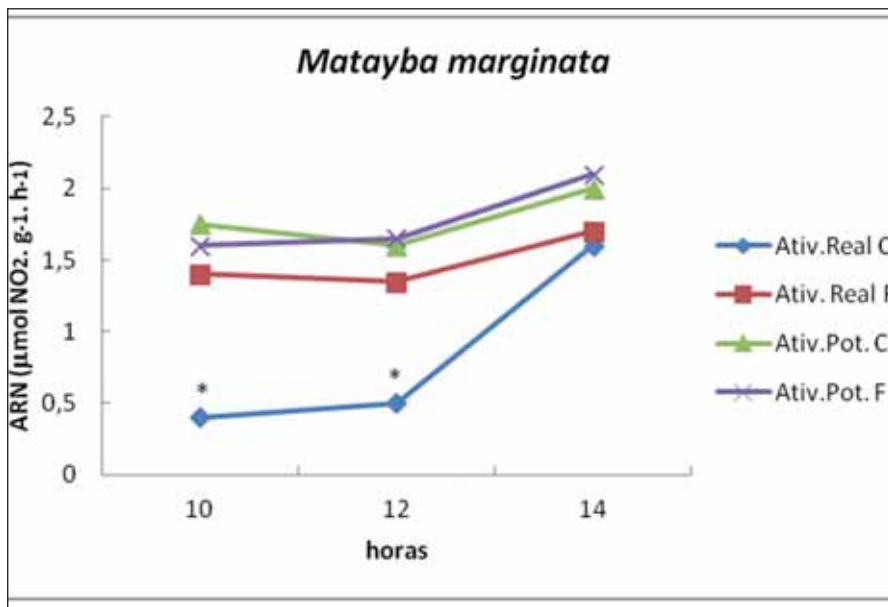


GRÁFICO 4 – Atividade de Redutase RN real e potencial médias em indivíduos dos grupos controle e fertilizado de *Matayba marginata*, nos horários de 10, 12 e 14h. (Ativ. Real C = atividade real do grupo controle; Ativ. Real F = atividade real do grupo fertilizado; Ativ. Pot. C = atividade potencial do grupo controle; Ativ. Pot. F = atividade potencial do grupo fertilizado). Asteriscos indicam que houve diferenças entre as atividades real ou potencial comparando-se os grupos controle ou fertilizado em determinado horário ( $p < 0,1$ ).

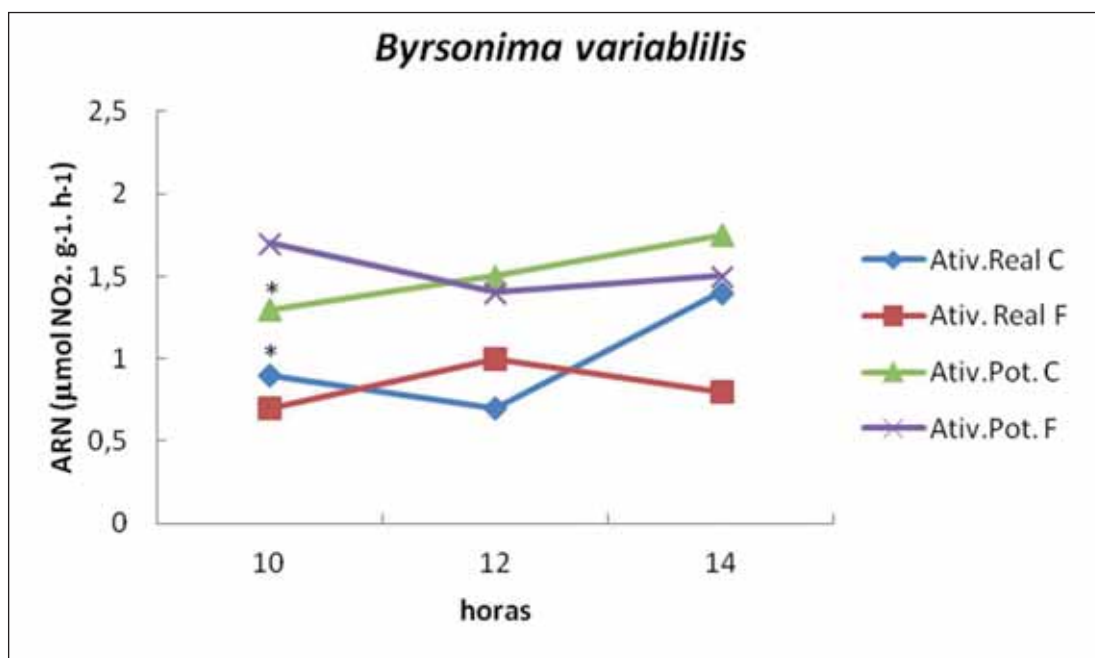


GRÁFICO 5 – Atividade de Redutase de Nitrato (ARN) real e potencial médias em indivíduos dos grupos controle e fertilizado de *Byrsonima variabilis*, nos horários de 10, 12 e 14h. (Ativ. Real C = atividade real do grupo controle; Ativ. Real F = atividade real do grupo fertilizado; Ativ. Pot. C = atividade potencial do grupo controle; Ativ. Pot. F = atividade potencial do grupo fertilizado). Asteriscos indicam que houve diferenças entre as atividades real ou potencial comparando-se os grupos controle ou fertilizado em determinado horário ( $p < 0,1$ ).

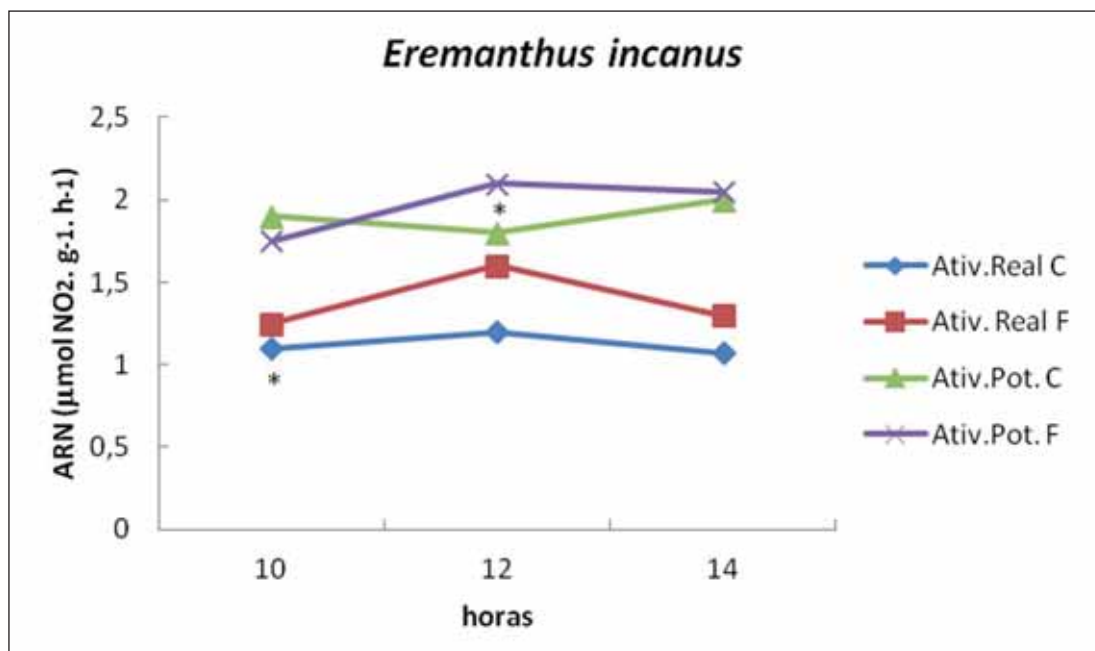


GRÁFICO 6 – Atividade de Redutase de Nitrato (ARN) real e potencial médias em indivíduos dos grupos controle e fertilizado de *Eremanthus incanus* nos horários de 10, 12 e 14h. (Ativ. Real C = atividade real do grupo controle; Ativ. Real F = atividade real do grupo fertilizado; Ativ. Pot. C = atividade potencial do grupo controle; Ativ. Pot. F = atividade potencial do grupo fertilizado). Asteriscos indicam que houve diferenças entre as atividades real ou potencial comparando-se os grupos controle ou fertilizado em determinado horário ( $p < 0,1$ ).

Quando comparadas as atividades reais e potenciais entre as espécies em todos os horários nos quais a ARN foi mensurada, verifica-se que às 10h, a atividade real média das três espécies não diferiu significativamente ( $p>0,1$ ), tanto no controle como sob fertilização. Por outro lado, atividade potencial dos indivíduos do controle diferiram estatisticamente entre *E. incanus* e *B. variabilis* ( $p<0,1$ ; GRÁF. 7). Às 12h, *E. incanus* exibiu tanto a atividade real

quanto a potencial mais elevada que as outras espécies em todos os tratamentos ( $p<0,1$ ; GRÁF. 8). Às 14h, *M. marginata* apresentou atividade real superior às demais espécies ( $p<0,1$ ; GRÁF. 9).

Comparando-se os horários em cada espécie pôde-se perceber que a única diferença significativa ( $p<0,1$ ) ocorreu em *Matayba marginata*, que apresentou elevação significativa da ARN real e potencial ao longo do dia tanto no controle como sob fertilização.

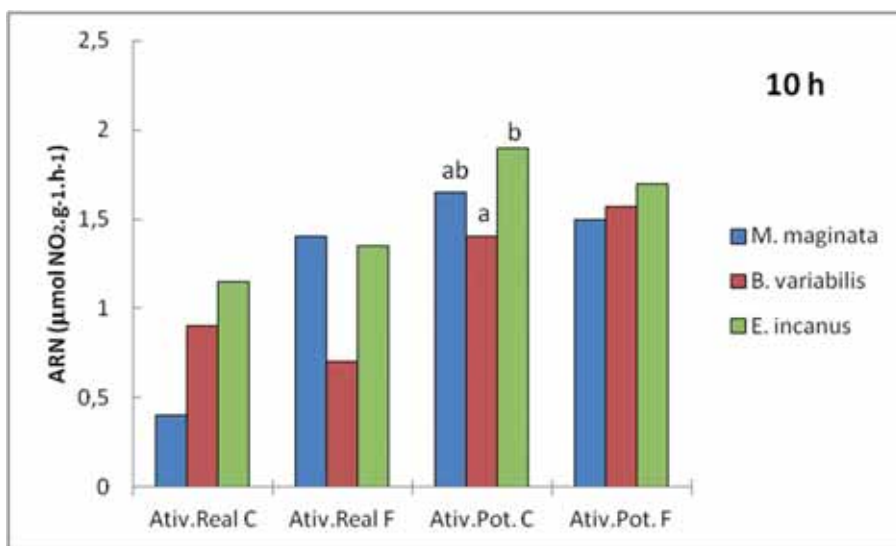


GRÁFICO 7 – ARN médias das três espécies às 10h. (Ativ. Real C = atividade real do grupo controle; Ativ. Real F = atividade real do grupo fertilizado; Ativ. Pot. C = atividade potencial do grupo controle; Ativ. Pot. F = atividade potencial do grupo fertilizado). As letras diferentes indicam diferenças significativas entre as espécies dentro de cada tratamento ( $p<0,1$ ).

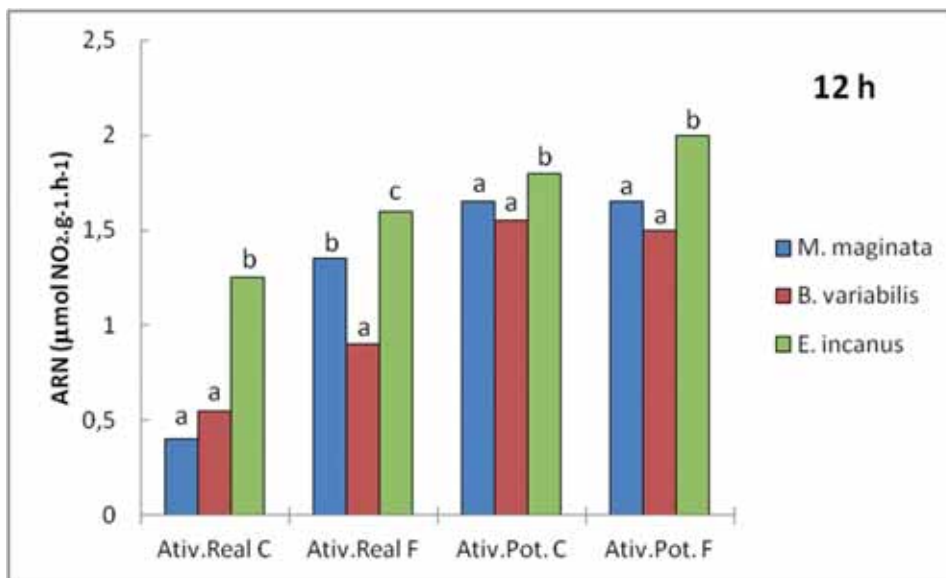


GRÁFICO 8 – ARN médias das três espécies às 12h. (Ativ. Real C = atividade real do grupo controle; Ativ. Real F = atividade real do grupo fertilizado; Ativ. Pot. C = atividade potencial do grupo controle; Ativ. Pot. F = atividade potencial do grupo fertilizado). As letras diferentes indicam diferenças significativas entre as espécies dentro de cada tratamento ( $p<0,1$ )

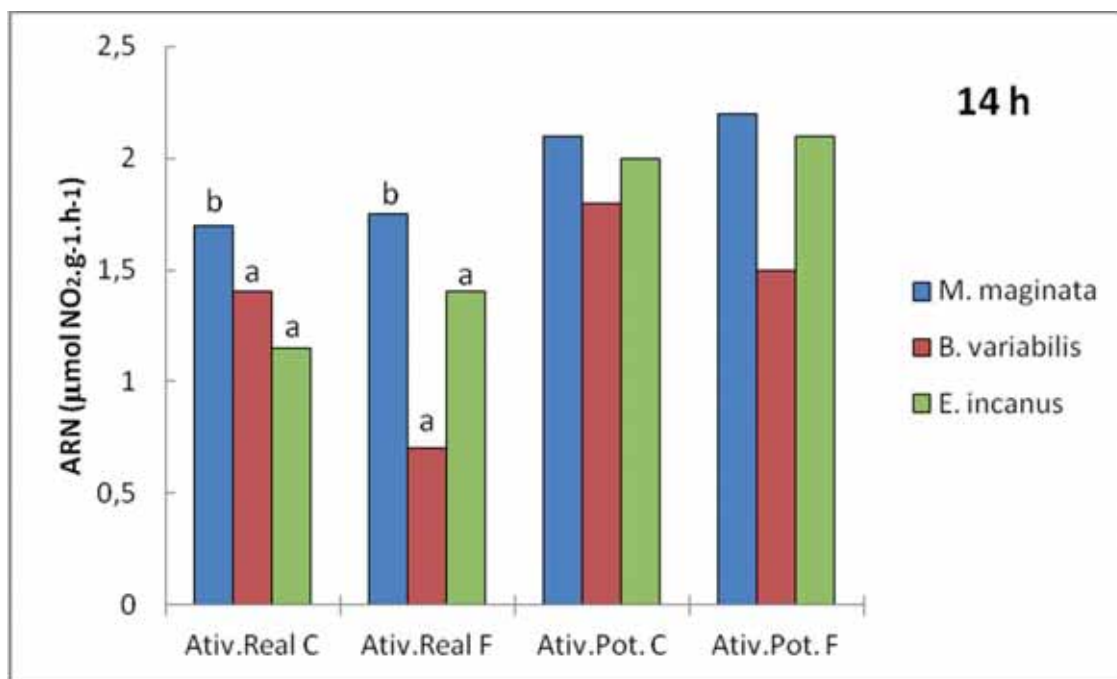


GRÁFICO 9 – ARN médias das três espécies no horário das 14h. (Ativ. Real C = atividade real do grupo controle; Ativ. Real F = atividade real do grupo fertilizado; Ativ. Pot. C = atividade potencial do grupo controle; Ativ. Pot. F = atividade potencial do grupo fertilizado). As letras distintas indicam diferenças significativas entre as espécies dentro de cada tratamento ( $p < 0,1$ ).

## Discussão

*Matayba marginata* tendeu a aumentar a atividade de RN com o passar das horas após a aplicação dos tratamentos, atingindo valores mais elevados às 14 h. O mesmo ocorreu com os indivíduos de *B. variabilis* no controle. Em *E. incanus*, por outro lado, aparentemente a resposta à fertilização sobre as folhas foi mais rápida, pois houve tendência de elevação dos valores de redutase de nitrato ao meio-dia. Padrão semelhante foi constatado por Freitas *et al.* (2007) em cafeeiro, no qual as folhas absorveram o nitrato e induziram a enzima rapidamente. Aumento da ARN foliar em *M. marginata* quando a fertilização ocorreu diretamente no solo não foi observado. Os resultados sugerem que, em *M. marginata*, o principal sítio de redução

do nitrato é a raiz, assim como observado em outros estudos com *Ananas comusus* (NIERVOLA & MERCIER, 2001). No entanto, se o fertilizante for disponibilizado diretamente nas folhas, simulando a deposição atmosférica sobre as lâminas foliares, estes órgãos são capazes de realizar a redução do nitrato de forma eficiente, uma vez que a atividade real de indivíduos fertilizados foi superior àquela apresentada pelos indivíduos que receberam apenas água destilada. É possível que *M. marginata* responda à fertilização de forma pontual, ou seja, haveria preferência em se realizar a redução do nitrato no local onde ele está sendo disponibilizado. Em condições normais (controle), esta espécie realiza a atividade de redutase de nitrato principalmente na raiz. Talvez esta

---

estratégia esteja relacionada à deciduidade, ou seja, ao fato de perderem as folhas durante a estação seca.

*Byrsonima variabilis* foi classificada como a espécie representativa do grupo funcional de atividade intermediária no uso de nitrogênio, quando se comparou a ARN foliar entre diversas espécies dos campos ferruginosos. No presente experimento, entretanto, percebeu-se que essa espécie tende a apresentar altas atividades reais de redutase de nitrato tanto nas folhas como nas raízes. Sendo assim, em *B. variabilis*, provavelmente, não há distinção no sítio de realização da ARN, ou seja, há uma tendência em se realizar tanto atividade radicular quanto a foliar, independente da forma como o fertilizante for disponibilizado. Constatações semelhantes foram feitas por Freitas *et al.* (2007) quando compararam a ARN em plantas fertilizadas no solo ou na folha-solo.

O fato de *B. variabilis* e *M. marginata* exibirem sítios de atuação da RN tanto nas folhas como nas raízes, sugere que essas espécies possuam vantagens competitivas no ambiente eutrofizado do futuro próximo. *E. incanus*, por sua vez, apresenta as folhas como principal sítio de atuação da RN, pois mesmo com o fertilizante prontamente disponível para as raízes, a enzima deste órgão não foi eficiente no uso do substrato, verificado pela baixa atividade potencial. O mesmo ocorreu com *Bactris gasipaes* (OLIVEIRA *et al.*, 2005), com *Pterodon polygalaeiflorus* (BUSTAMANTE *et al.*, 1995) e com outras espécies lenhosas (SMIRNOFF *et al.*,

1984) que apresentaram maior ARN em folhas que em raízes. Como observado, a ARN foliar em *E. incanus* respondeu mais rapidamente que as demais espécies após a fertilização sobre as folhas. De acordo com 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 NADPH, provenientes da fotossíntese, e dessa forma a ação da RN nas folhas é favorecida, já que em raízes e outros órgãos subterrâneos há necessidade de translocação e oxidação de carboidratos para a atividade dessa enzima (AIDAR *et al.*, 2003).

Foi observado também que *E. incanus* e *M. marginata* apresentaram maior atividade de redutase de nitrato que a *B. variabilis*, quando o fertilizante foi lançado nas folhas. Uma possível explicação para tal isso pode ser o fato das duas primeiras apresentarem maior área foliar específica (MACHADO, 2008 - dados não publicados), aumentando a superfície de absorção do substrato.

Com relação ao curso diário da redutase de nitrato, Oliveira *et al.* (2005) verificaram variação na atividade da enzima em função das horas do dia em *Bactris gasipaes*. Nessa espécie, no início do período luminoso, a atividade da enzima foi maior quando comparada com o período da tarde. A atividade máxima foi mensurada às 10h, verificando-se declínio nas horas subseqüentes. No entanto, nas espécies em estudo neste trabalho, isso não foi comprovado, uma vez que a ARN entre os grupos não variou significativamente ao longo dos horários; a não ser em *M.*

---

*marginata* que apresentou maior atividade real em indivíduos do grupo fertilizado nos horários de 10 e 12h. É importante ressaltar que houve muita variação na atividade de redutase de nitrato entre indivíduos de um mesmo tratamento. Essa enzima além de ser altamente modulada pelos fatores externos como luz, temperatura e água, dentre outros (FREITAS *et al.*, 2007) é também influenciada por fatores fisiológicos de cada planta (como, por exemplo, floração, frutificação e senescência). Apesar da grande variação, foi possível verificar diferentes estratégias de uso de nitrato entre as espécies, assim como diferentes respostas ao aumento da disponibilidade de nitrogênio sobre as folhas ou no solo.

### Considerações finais

O sistema radicular se mostrou mais ou igualmente eficiente que folhas na utilização do nitrato em *Matayba marginata* e em *Byrsonima variabilis*, respectivamente. Por outro lado, *E. incanus* concentra sua habilidade de usar o nitrato nas folhas. De maneira geral, as três espécies se mostraram ineficientes na utilização do substrato no campo, quando a fertilização ocorreu no solo. No entanto, quando o nitrogênio foi disponibilizado sobre as folhas, os indivíduos do grupo fertilizado tenderam a apresentar maior atividade (principalmente *M. marginata*). Além disso, o fato das atividades potenciais foliares serem superiores às reais indica a

existência de grande potencial bioquímico e fisiológico de resposta das espécies ao aumento da disponibilidade de nitrogênio via deposição atmosférica. Os resultados obtidos neste estudo não permitem afirmar qual das espécies se beneficiaria ou sofreria efeitos mais negativos da poluição atmosférica nitrogenada, pois dados de crescimento relativo, incremento de biomassa, e outros, deveriam ser considerados em estudos de longo prazo. Por outro lado, eles deixam claro que as espécies estudadas, especialmente *M. marginata*, são sensíveis à fertilização, aumentando a ARN nas folhas e até mesmo nas raízes. De forma geral, espécies com maiores habilidades de capturar e assimilar o nitrogênio do ambiente em seus tecidos (nitrofilicas) em resposta ao aumento da sua disponibilidade no ambiente, devem acelerar seu crescimento, aumentar sua competitividade e, ao médio e longo-prazos, excluir as espécies não-nitrofilicas. Considerando as respostas observadas neste estudo, *M. marginata*, seguida de *E. incanus*, parecem ser mais aptas a capturar e usar o nitrogênio da deposição atmosférica sobre as folhas que *B. variabilis*.

### Referências

- AIDAR, M.P.M.; SCHMIDT, S.; MOSS, G.; STEWART, G.R.; JOLY, C.A.. Nitrogen use strategies of neotropical rainforest trees in threatened Atlantic Forest. **Plant, Cell and Environment**, v. 26, p. 389-399. 2003.
- ASMAN, W. A. H.; SUTTON, M. A.; SCHJØRRING, J. K. Ammonia: emission, atmospheric transport and deposition. **New Phytologist**, v.13, p. 27-48. 1998.

- BUSTAMANTE, M. M. C.; SILVA, L.F.; CORNÉLIO, I.N.; KOZOVITS, A.R.; CALDAS, L.S. Atividade da redutase do nitrato em plântulas de *Pterodon polygalaeflorus* Benth. e *Dalbergia miscolobium* Benth. crescendo *in vitro* com diferentes concentrações de nitrato de amônio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 5., 1995, Lavras. **Anais...** Lavras:1995.
- BUSTAMANTE, M. M. C., DE BRITO, D. Q., KOZOVITS, A. R., LUEDEMANN, G., DE MELLO T. R. B., PINTO, A. S., MUNHOZ, C. B. R., TAKAHASHI, F. S. C.. Effects of nutrient additions on plant biomass and diversity of the herbaceous-subshrub layer of a Brazilian savanna (Cerrado). **Plant Ecology**, v. 213, p. 795 – 808. 2012
- CALATAYUD, A.; ROCA, D.; GORB, E.; MARTINEZ, P.F.. Light acclimatation in rose (*Rosa* hybrid cv. Grand Gala) leaves after pruning: Effects on chlorophyll a fluorescence, nitrate reductase, ammonium and carbohydrates. **Scientia Horticulturae**, v. 111, p. 152 – 159, 2007.
- CAMPBELL, W.H. Nitrate reductase and its role in nitrate assimilation in plants. **Physiologia Plantarum**, v. 74, p. 214-219, 1988.
- FABIAN, P.; KOHLPAINTNER, M.; ROLLENBECK, R.. Biomass burning in the Amazon - fertilizer for the mountaineous rain forest in Ecuador. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 12, p. 290-296, 2005.
- FERREIRA, M.B.; MAGALHÃES, G.M. Contribuição para o conhecimento da vegetação da Serra do Espinhaço em Minas Gerais (Serras do Grão Mogol e de Ibitipoca). In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 26, 1977, Rio de Janeiro, **Anais...** Rio de Janeiro, p. 189-202.
- FLUES, M. Evaluation of the rainwater acidity of a rural region due to a coal-fired power plant in Brazil. **Atmospheric Environment**, v. 36, p. 2397-2404, 2002.
- FREITAS, R. B. et.al. Adubação do cafeeiro com nitrato de potássio via solo e folha, no outono-inverno e primavera-verão: efeitos na atividade da redutase do nitrato, no crescimento das plantas e na produção. **Ciência Agrotecnologia** v. 31, n. 4. Jul/Ago.2007
- FUNDAÇÃO JOÃO PINHEIRO. **Perfil de Minas Gerais- 1999**. Belo Horizonte: FJP/CBMM, 244p.
- GIULIETTI, A.M.; PIRANI, J.R. (Patterns of geographic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil. **Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, p. 36-69. 1998
- GIULIETTI, A.M.; PIRANI, J.R.; HARLEY, R. Espinhaço Range region, eastern Brazil. **IUCN Publications**, Cambridge, U.K., v. 3, p. 397-404.1997.
- KOZOVITS, A.R. et.all. Nitrato de amônio no solo e sua assimilação por espécies lenhosas em uma área de cerrado submetida a queimadas prescritas. In: MIRANDA, H.S.; SAITO, C.H.; DIAS, B.F. S (Org.) **Impactos de queimadas em áreas de cerrado e restinga**. Brasília: Universidade de Brasília, UNB 1996, p. 137-147.
- KRUSCHE, A. V. *et al.* Acid rain and nitrogen deposition in a sub-tropical watershed (Piracicaba): Ecosystem consequences. **Environmental Pollution**, v. 121, p. 389-399. 2003.
- MACHADO, N. A. M. **Efeitos do aumento da disponibilidade de nitrogênio sobre a atividade da redutase de nitrato em plantas dos campos ferruginosos**. 2008. Monografia (Conclusão de Curso- Departamento de Ecologia) – Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP. Ouro Preto.
- MARTHA JÚNIOR, G. B., TRIVELIN, P. C. O.; CORSI, M. Absorção foliar pelo capim - tanzânia da amônia volatilizada do <sup>15</sup>N-ureia aplicado ao solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 103-108. 2009.
- MÜLLER, Carla Cristine; JÚNIOR, A. M. D.; RAYA-RODRIGUES, M. T. Efeito do NO<sub>2</sub> atmosférico em *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae/ Papilionoideae) no Campus do Vale da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2-3, p. 45-51, abr. set. 2007.
- NIEVOLA, C. C.; MERCIER, H. Variações diurnas da atividade *in vivo* da redutase do nitrato em abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merr. - Bromeliaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 3, São Paulo, 2001.
- OLIVEIRA, M. A. J.; BOVI, M. L. A.; MACHADO, E. C.; RODRIGUES, J. D. Atividade da redutase de nitrato em mudas de pupunheira (*Bactris gasipaes*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.3, p. 515-522, mai. Jun. 2005.
- PITCAIRN, C.; FOWLER D.; SHEPPARD, L.; TANG S. SUTTON, M. FUMULARI, D. Diagnostic

---

indicators of elevated nitrogen deposition. **Environmental Pollution**, v. 144, p. 941-950. 2006.

RAYA-RODRIGUEZ, M. T. O uso de bioindicadores para avaliação da qualidade do ar em Porto Alegre. In: ZURITA, M. L. L. & TOLDO, A. M. (Ed.). **A qualidade do ar em Porto Alegre**. Porto Alegre: SMAM, 2000, 103 p.

SIEGWOLF, R. T. W., MATYSSEK, R., SAURER, M., MAURER, S., GÜNTHARDT-GOEG, M. S., SCHMUTZ, P. & BUCHER, J. B. Stable isotope analysis reveals differential effects of soil nitrogen and nitrogen dioxide on the water use efficiency in hybrid poplar leaves. **New Phytologist**, v. 149, p. 233-246. 2001.

SILVA, M.F., ROSA, N. A.. Estudos botânicos na Área do Projeto Ferro Carajás, Serra Norte – aspectos ecológicos e vegetacionais dos campos rupestres. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 35, 1990, Manaus. **Anais...** Manaus: Sociedade de Botânica do Brasil, 1990, p. 367 – 379.

SRIVASTAVA, H. S. Regulation of nitrate reductase activity in higher plants. **Phytochemistry**, v. 19, p. 725–733. 1990.

STULEN, I., PEREZ-SOBA, M., DE KOK, L. J. & VAN DER EERDEN, L.. Impact of gaseous nitrogen

deposition on plant functioning. **New Phytologist**, v. 139, p. 61-70. 1998.

TISCHNER, R. Nitrate uptake and reduction in higher and lower plants. **Plant, Cell and Environment**, v. 23, p. 1005 – 1024. 2000.

TRIPATHI, A. K.; GAUTAN, M. Biochemical parameters of plants as indicators of air pollution. **J. of Environmental Biology**, v. 28, p. 127 – 132. 2007.

VINCENT, R.C. **Florística, fitossociologia e relações entre a vegetação e o solo em áreas de campos ferruginosos no Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais**. 2004.145f. Tese (Doutorado), Instituto de Biociências – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

VITOUSEK, P.; MOONE, H.; LUBCHENCO, Y. J.; MELILO, J. Human domination of earth's ecosystems. **Science**, v. 277, p. 494–499. 1997.

## Agradecimentos

À Fapemig pelo financiamento do projeto CRA APQ-0807-5.03/07.