

# Atividade da redutase do nitrato em folhas de cafeeiro em função da adubação nitrogenada

André Rodrigues dos Reis\*, Enes Furlani Junior e Kuniko Iwamoto Haga

Universidade Estadual Paulista, Campus de Ilha Solteira, Av Brasil, 56, 15385-000, Ilha Solteira, São Paulo, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: andrekun@gmail.com

**RESUMO.** A redutase de nitrato (RN) é a primeira enzima no processo de redução do nitrogênio na planta. Sua incorporação, em esqueletos carbônicos, pode melhor indicar a entrada do nitrogênio na planta. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes doses e épocas de aplicação de nitrogênio sobre a atividade da RN e estabelecer correlações com a produtividade do cafeeiro. O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, em esquema fatorial 5 x 3 x 3, constituído pela combinação de 5 doses (0, 50, 150, 250 e 350 kg ha<sup>-1</sup>) de N; 3 épocas de aplicação (aplicação única em dezembro), 2 aplicações (parceladas em novembro e janeiro) e 3 aplicações (parceladas em novembro, dezembro e janeiro) e atividade da enzima em três posições na planta (ápice, terço médio e base). Avaliou-se a produtividade do cafeeiro, teor de nitrogênio foliar, além da atividade da RN durante a fase de frutificação. A atividade da enzima correlacionou-se positivamente tanto com o teor de N foliar ( $r = 0,96$ ) quanto na produtividade de grãos ( $r = 0,89$ ), ajustando-se a uma função linear e quadrática, respectivamente. A maior produtividade de grãos foi obtida com o fornecimento de 210 kg ha<sup>-1</sup> de N.

**Palavras-chave:** *Coffea arabica*, uréia, enzima, nitrogênio.

**ABSTRACT.** Nitrate reductase (RN) is the first enzyme in the nitrogen reduction process on crops incorporated to carbonic skeletons that can indicate the nitrogen entrance level on plants. This work aims to investigate the effects of different rates and times of nitrogen application on RN activity and nitrogen content in leaves; and to establish correlations with coffee plants productivity. The experimental design used was completely randomized in a factorial outline 5 x 3 x 3, constituted by the combination of 5 nitrogen(urea) rates (0, 50, 150, 250 and 350 kg ha<sup>-1</sup>) in three application times (a single application in December); two applications (November and January); three applications (November, December and January) and enzyme activity on three plant crown positions (apex, middle and base). The RN activity, the concentration of nitrogen in leaves and its productivity were evaluated during the frutification period. The enzyme activity was correlated positively both to N content in leaves ( $r = 0.96$ ) and to grain productivity ( $r = 0.89$ ). These results were adjusted to a linear and a quadratic model functions, respectively. The rate of 210 kg N ha<sup>-1</sup> promoted higher productivity. The estimative of RN activity showed good results for detecting N deficiencies in coffee crops.

**Key words:** *Coffea arabica*, urea, enzyme, nitrogen, nitrate reductase.

## Introdução

O nitrogênio é o nutriente exigido em grande quantidade na maioria das culturas e em especial no cafeeiro (Malavolta, 2006). Ainda que presente em altos níveis nos solos, a quantidade do N na forma mineral é geralmente baixa. No ecossistema natural, há perda contínua de N, não só devido à sua absorção pelas plantas, mas também em virtude da lixiviação, volatilização e desnitrificação (Lam *et al.*, 1996).

Em plantas de clima tropical, o aproveitamento do N é também prejudicado pela disponibilidade de água

no solo, pela baixa fertilidade e presença de alumínio, entre outros fatores (Magalhães *et al.* 1993).

O aproveitamento do N na produção, de um modo geral, pode ser verificado por componentes fisiológicos tais como o uso eficiente da radiação e a partição de nitrogênio por órgãos vegetativos e reprodutivos. Assim, a área foliar e a longevidade de folhas e o uso eficiente de luz podem ser aumentados pela disponibilidade de N (Muchow e Davis, 1988).

A assimilação do nitrogênio é um processo fundamental para o crescimento e o

desenvolvimento das plantas e tem efeitos marcantes sobre a fitomassa e a produtividade final das culturas. A rota de assimilação do nitrato em plantas superiores envolve dois estágios seqüenciais: a primeira é a conversão do nitrato à amônia, mediada pela RN, a qual reduz nitrato a nitrito; a segunda é pela nitrito redutase, que converte nitrito à amônia. No segundo estágio, a amônia é então assimilada nos aminoácidos glutamina e glutamato, os quais servem para translocar nitrogênio orgânico de fontes para drenos (Campbell, 1999).

O nitrato é a principal forma de N disponível para as plantas após a calagem e adubações em plantios comerciais. Em áreas onde o pH do solo é naturalmente baixo ou não foi devidamente corrigido, a atividade microbiana é baixa, impedindo a conversão do amônio em nitrato, permanecendo no solo como amônio. A maioria das plantas absorve o N na forma de nitrato, observando-se que a forma amoniacal tem efeito tóxico para as células (Coelho *et al.*, 1991).

A RN é uma enzima cuja síntese e atividades são induzidas pelo substrato. É considerada enzima chave na regulação da disponibilidade de N reduzido para o metabolismo das plantas. Sua atividade poderia, por isso, estar relacionada com a produtividade de espécies de milho ou com sua capacidade de responder à adubação nitrogenada (Beevers e Hageman, 1969). Vários experimentos já foram conduzidos usando genótipos para testar a hipótese de se utilizar a atividade dessa enzima como ferramenta auxiliar no desenvolvimento de genótipos mais produtivos, mais responsivos à adubação nitrogenada ou mais eficiente no uso desse nutriente (Eichelberger *et al.*, 1989).

No ciclo de 24 horas, a contribuição dos dois principais sítios de redução do nitrato em plantas de café, raiz e folhas foi a mesma. Contudo, a maior contribuição das raízes para a redução do nitrato ocorreu durante o período luminoso. As folhas, entretanto, apresentaram maior participação à noite. O padrão rítmico de aumento e de declínio de atividade da RN nas folhas correspondeu às flutuações na concentração de nitrato translocado no xilema, sugerindo que o influxo de nitrato desempenha um papel mais importante na indução da atividade enzimática na folha que o nitrato previamente armazenado no vacúolo (Queiroz *et al.*, 1993).

A adubação nitrogenada recomendada para o cafeeiro varia de 50 a 450 kg ha<sup>-1</sup> de N (Raij *et al.*, 1997), sendo necessário um estudo específico para a determinação de doses mais adequadas, com ou sem parcelamento, principalmente em regiões não-tradicionais.

Alguns trabalhos têm indicado diferenças na

atividade da RN entre partes da planta, destacando, normalmente, parte aérea e sistema radicular (Li e Oaks, 1993). Há registros também de diferenças na atividade da enzima entre bainhas e folhas de *Brachiaria* sp. (Fernandes *et al.*, 1978).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a atividade da RN em função da posição do cafeeiro (ápice, terço médio e base), doses e épocas de aplicação de N, visando não só orientar amostragens de tecido, bem como evidenciar a relação entre o conteúdo de N foliar, a atividade da enzima e a produtividade do cafeeiro.

## Material e métodos

O experimento foi realizado no município de Sud Mennucci, Estado de São Paulo (20°40'57" de latitude Sul e 50°54'49" de longitude oeste). O clima da região, segundo classificação de Köppen, é do tipo Aw, definido como tropical úmido com estação chuvosa no verão e seca no inverno, apresentando temperatura média anual de 24,5°C e precipitação média anual de 1.232 mm e umidade relativa média de 64,8% (Hernandez *et al.*, 1995). O solo pertence à classe taxonômica Argissolo Vermelho Amarelo eutrófico (Oliveira *et al.*, 1999).

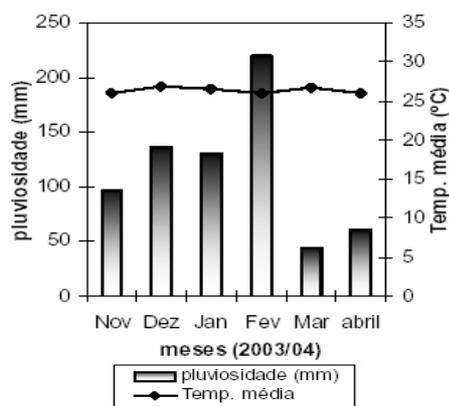


Figura 1. Dados climáticos do município de Sud Mennucci, Estado de São Paulo, ano agrícola 2003/04.

O experimento foi desenvolvido no ano agrícola 2003/2004 em condições de campo, em uma área cultivada com Catuaí Vermelho IAC 81 com cinco anos de idade no espaçamento de 3,0 m entre linhas e 1,0 m entre plantas. Foi efetuada uma adubação básica de produção com 60 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup> e 150 kg de K<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup>, conforme as recomendações de Raij *et al.* (1997). As características químicas do solo na profundidade 0-20 cm foram as seguintes: 56 mg dm<sup>-3</sup> de P (Mellich), 12 g dm<sup>-3</sup> de MO, 5,7 de pH (CaCl<sub>2</sub>), 1,7 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de K; 22 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Ca; 3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Mg, 13 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de H+Al; 1 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Al, 27 g dm<sup>-3</sup>

de SB,  $4 \text{ g dm}^{-3}$  de T e 67% de V.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados; os tratamentos foram obtidos a partir de um esquema fatorial  $5 \times 3 \times 3$ , perfazendo 45 tratamentos com quatro repetições, totalizando 180 pontos de coletas. O primeiro fator foi doses de nitrogênio (0, 50, 150, 250 e  $350 \text{ kg ha}^{-1}$ ), o segundo fator foi sistemas de aplicação das doses de N (aplicação única, 2 vezes e 3 vezes) e o terceiro fator foi posição na planta (ápice, terço médio e base). A fonte de N utilizada foi a uréia (45% de N) aplicada e incorporada para evitar perda por volatilização. As doses de N foram sugeridas com base no teor foliar ( $26,80 \text{ g kg}^{-1}$ ) e na expectativa de produção de  $2,5 \text{ t ha}^{-1}$ , o que representou o fornecimento de  $150 \text{ kg ha}^{-1}$  N. As demais doses foram definidas a partir das recomendações básicas de Rajj *et al.* (1997).

O fertilizante foi fornecido de três maneiras: uma única aplicação (dezembro/2003), duas aplicações (novembro/2003 e janeiro/2004) e em três aplicações (novembro, dezembro/2003 e janeiro/2004).

A determinação bioquímica da atividade da RN foi realizada de acordo com metodologia descrita por Radin (1974). A atividade da enzima foi avaliada em três diferentes posições do cafeeiro: ápice, terço médio e base da planta visando orientar futuras amostragens de tecido para a determinação da enzima. As folhas foram coletadas sempre no período entre 9:00 e 10:00h e acondicionadas em caixas térmicas para o transporte até o laboratório. De cada folha foram eliminadas a base e o ápice, com a porção média cortada em pedaços de cerca de  $5 \times 5 \text{ mm}$ , incubados em solução tampão fosfato ( $\text{K}_2\text{HPO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 0,1 M) pH 8,0, contendo  $\text{KNO}_3$  (100 mM) e 3 mL de Tween 20 1%, submetidos à infiltração sob vácuo, com posterior transferência para banho Maria a  $32^\circ\text{C}$ , sob agitação e em ausência de luz por uma hora. Alíquotas de 0,2 mL do extrato foram adicionadas a uma solução (v:v) de N-2-naftil etilenodiamino di HCl 0,02% (m/v) + sulfanilamida 1% (m/v) em HCl 1,5 N. Depois de estabilizada a reação, procedeu-se à leitura da absorbância a 540 nm em espectrofotômetro. Para o cálculo da atividade da RN utilizou-se o valor das leituras da absorbância a 540 nm em espectrofotômetro. A atividade da enzima foi expressa com base na quantidade de nitrito formado, sendo micromoles de nitrito formado por grama de massa fresca de folha por hora ( $\mu\text{mol NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$ ).

Na avaliação da produtividade do cafeeiro foram colhidas três plantas de cada parcela, convertendo-se a produção obtida em  $\text{kg ha}^{-1}$  (13%, base úmida). Os dados referentes à atividade da RN e à produtividade de grãos foram submetidos à análise de variância,

com as médias de épocas comparadas pelo teste de Tukey e médias de doses avaliadas por análise de regressão, ambas em nível de 5% de probabilidade, bem como relação funcional entre a atividade da enzima com a produtividade do cafeeiro.

## Resultados e discussão

A atividade da RN variou com a época com que foi feita a análise (Figura 2). Na primeira avaliação, antes da aplicação do N, obteve-se um baixo coeficiente de determinação (Figura 2A). Realizou-se uma avaliação antes da aplicação do N para verificar a atividade enzimática do cafeeiro e investigar um possível resíduo da aplicação do N do ano agrícola anterior.

Na segunda determinação da atividade da RN, realizada aos sete dias após a primeira aplicação do fertilizante nitrogenado (Figura 2B), verificou-se que, mesmo em um curto período após a adubação houve resposta linear com as doses de N. A dose de  $350 \text{ kg ha}^{-1}$  proporcionou a maior atividade da RN nessa avaliação, observando-se  $1,05 \mu\text{mol NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$ . O mesmo comportamento ocorreu aos sete dias após a segunda aplicação do nitrogênio (dezembro), em que a dose de  $350 \text{ kg ha}^{-1}$  N proporcionou também uma maior atividade da enzima: aproximadamente igual a  $1,19 \mu\text{mol NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$  (Figura 2C). Estudos realizados em mudas de cafeeiro por Queiroz *et al.* (1993) verificaram que, para o ritmo diurno e noturno da atividade da RN, a máxima atividade da enzima constatada foi de  $2 \mu\text{mol NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$ .

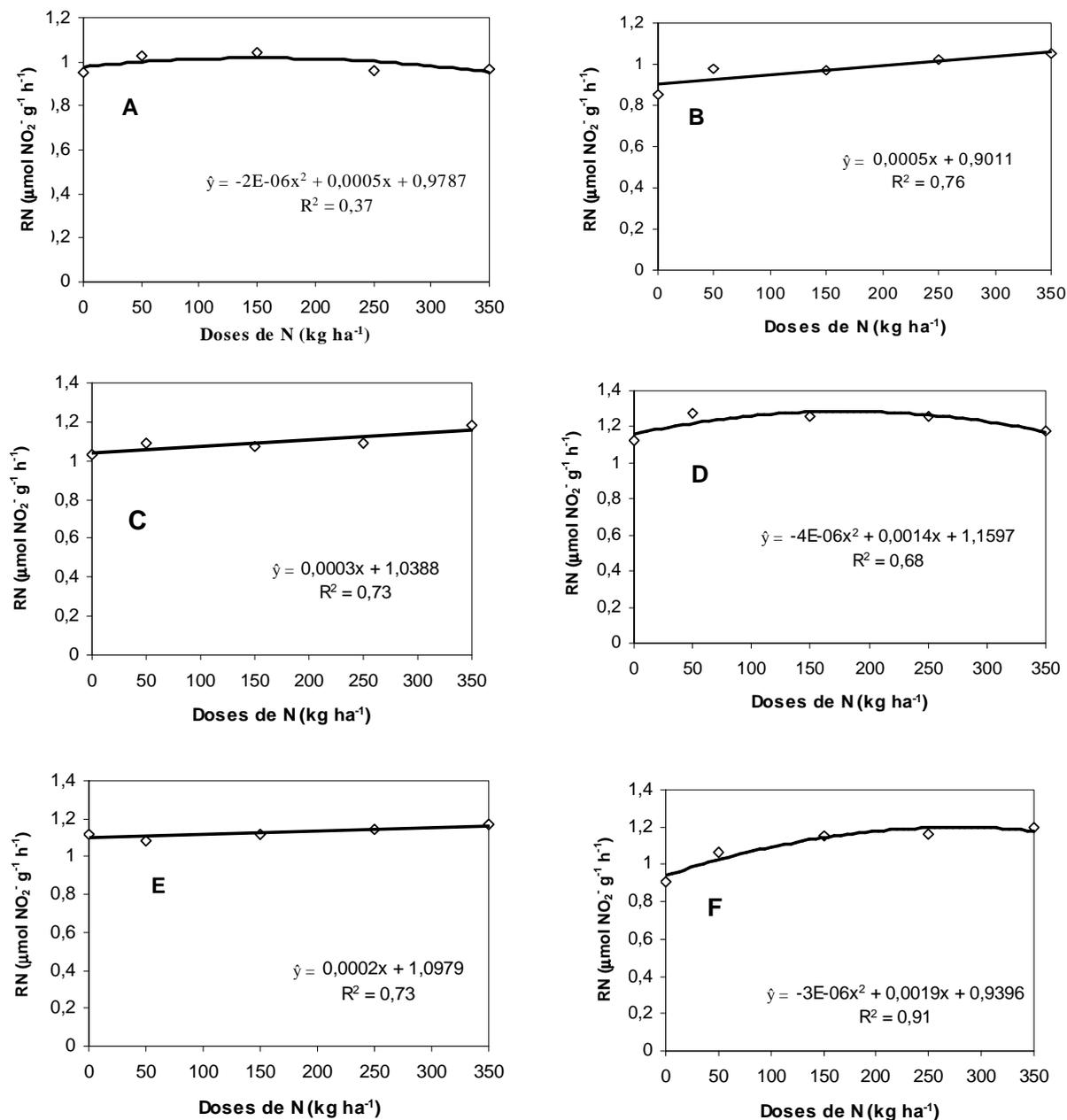
Para a quarta determinação da atividade da enzima, realizada aos sete dias após a terceira aplicação do nitrogênio (janeiro), os dados foram ajustados por meio de uma regressão quadrática, em que a maior atividade foi constatada pelo fornecimento de  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  (Figura 2D).

Na quinta determinação da atividade da RN (fevereiro/2004), realizada 30 dias após a terceira e última aplicação de nitrogênio, observou-se que a equação que mais bem se ajustou aos dados foi do tipo linear, com a dose  $350 \text{ kg ha}^{-1}$  N, proporcionando a maior atividade da RN (Figura 2E). O mesmo fenômeno foi verificado no mês de março/2004 (60 dias após a terceira aplicação), mas a equação que se ajustou aos dados foi do tipo quadrática (Figura 2F). Mesmo após 2 meses, após a última aplicação de nitrogênio, houve resposta enzimática da RN com bom coeficiente de determinação ( $R^2 = 0,91$ ). Esse comportamento, provavelmente, ocorreu devido à alta precipitação no mês de fevereiro a março, uma vez que a atividade da RN também pode ser regulada pela água, pois

esta além de outros fatores como a luz, N e carboidratos, estimula a proteína fosfatase, que desfosforila vários resíduos de serina na proteína RN, promovendo a ativação da enzima. A regulação da atividade da RN através da fosforilação e da desfosforilação possibilita um controle mais rápido do que obtido através da síntese ou degradação da enzima (Taiz e Zeiger, 2004).

Verificou-se a atividade da enzima em três diferentes posições (ápice, terço médio e base) do

cafeeiro, para se determinar o melhor local de coleta de folhas para análises bioquímicas em relação ao N. Uma semana antes da aplicação do N, determinaram-se as atividades em três posições no cafeeiro e constatou-se o efeito residual do ano agrícola anterior somente na região apical (Figura 3A). Isso pode ser explicado pela presença de folhas jovens, as quais apresentam alta capacidade de síntese, constituindo-se como drenos fortes na redistribuição de N de outras partes da planta e, conseqüentemente, com maior atividade da enzima.



**Figura 2.** Atividade da RN em função de doses de N (kg ha<sup>-1</sup>); A - Nov. (antes da aplicação do N); B - Nov. (7 dias após 1ª aplicação de N); C - Dez. (7 dias após 2ª aplicação de N); D - Jan. (7 dias após 3ª aplicação de N); E - Fev. (30 dias após 3ª aplicação de N); F - Mar. (60 dias após 3ª aplicação de N).

Depois de uma semana após a primeira aplicação de nitrogênio foi possível obter as atividades enzimáticas nas três posições avaliadas na planta (Figura 3B). Devido à presença de folhas jovens no ápice, observou-se maior atividade da RN em relação aos outros locais avaliados. Por outro lado, a base do cafeeiro apresentou menor atividade. Isso pode ser explicado pelo predomínio folhas velhas, as quais apresentam baixa capacidade de síntese. Outra hipótese para tal comportamento pode ser a menor incidência de luz na base da planta. Desse modo, a proteína fosfatase não foi ativada, ocorrendo assim a fosforilação dos resíduos de serina na proteína RN, o que promoveu menor atividade da enzima (Taiz e Zeiger, 2004). A atividade da enzima em todos os locais avaliados ajustou-se à regressão linear: a atividade aumenta com os níveis crescentes de nitrogênio.

Uma semana após a segunda aplicação (dezembro), a atividade enzimática foi significativa somente no ápice e no terço médio do cafeeiro (Figura 3C). Novamente o ápice apresentou maior atividade, ajustando-se à regressão quadrática. Apresentou bom coeficiente de determinação ( $R^2 = 0,96$ ). Por outro lado, em janeiro de 2004 (uma semana após a terceira aplicação) os três locais (ápice, terço médio e base) apresentaram os dados da atividade da RN à adubação nitrogenada, ajustados à regressão quadrática. Janeiro foi o único mês que o ápice apresentou menor atividade da enzima em relação ao terço médio e a base (Figura 3D). Além disso, em janeiro o cafeeiro apresentou a maior capacidade de atividade da enzima em relação às avaliações anteriores, apresentando uma atividade de  $1,4 \mu\text{mol NO}_2^- \text{ MF g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . Provavelmente esse comportamento da enzima seja devido à alta quantidade de luz solar que ocorre nesse mês. Em comparação a outros meses, janeiro possui um maior comprimento do dia, aumentando a taxa fotossintética do cafeeiro. Isso interfere na atividade da RN. A afirmação de Bachmann *et al.* (1995) de que a RN pode ser ativada no escuro mediante o fornecimento de açúcar acumulado durante o dia nas folhas pode explicar a maior atividade da referida enzima em janeiro. Provavelmente, parte das reservas da energia produzida durante o período luminoso seria utilizada para ativar a RN (Carelli *et al.*, 1990 e Queiroz *et al.*, 1993).

Aos 30 dias, após a terceira aplicação (fevereiro/2004), somente o terço médio do cafeeiro apresentou resposta significativa à aplicação de nitrogênio, ajustando-se à regressão linear (Figura 3E). A análise de todos os períodos de avaliações, permite inferir que o terço médio é o local mais

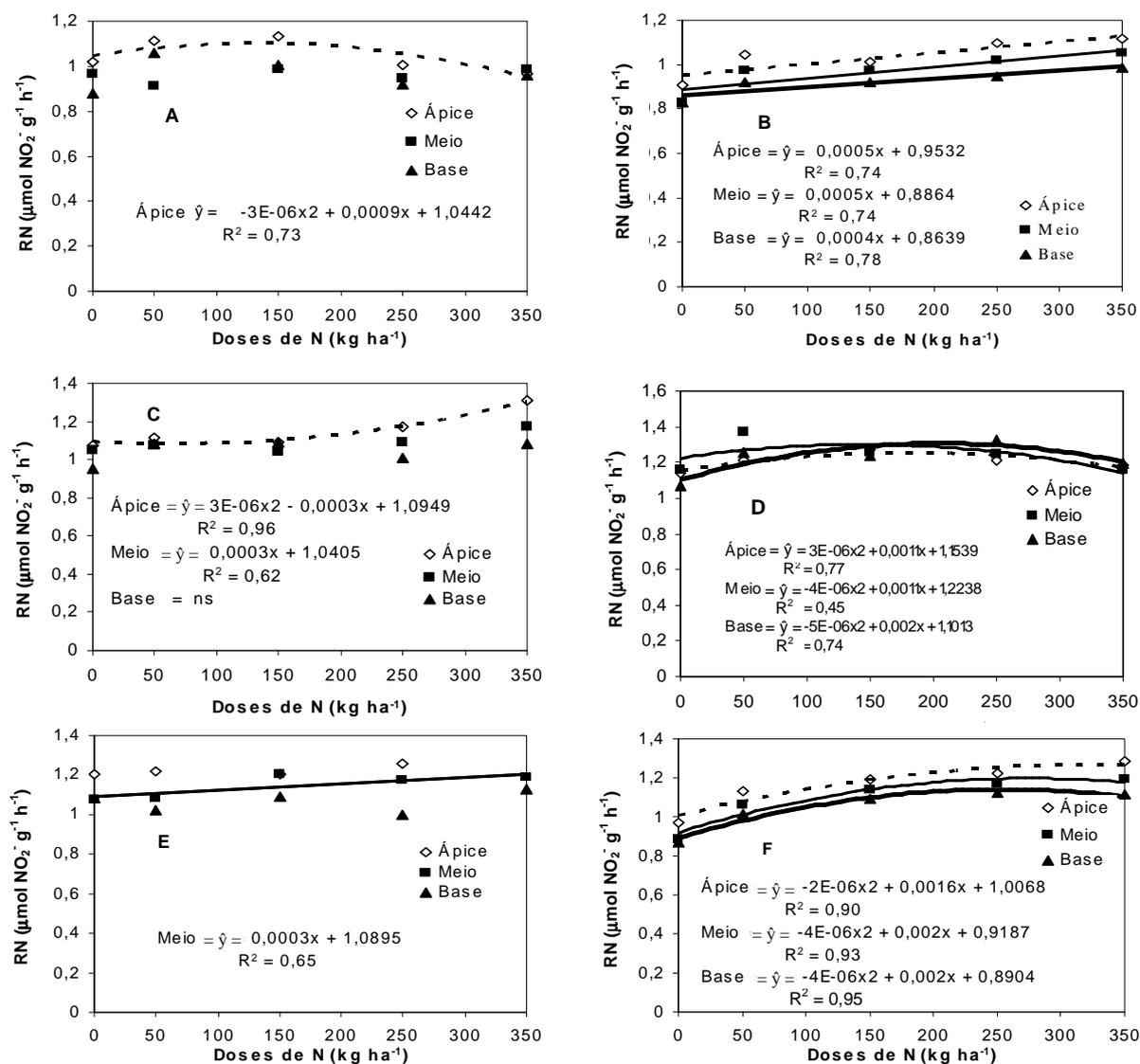
adequado para coleta de folhas de cafeeiro para a análise dessa enzima, pois este representa da melhor forma a atividade da enzima, evitando valores super ou subestimados da atividade enzimática como se verificou no ápice e base, respectivamente.

Por outro lado, aos 60 dias, após a terceira aplicação (março/2004), as três posições (ápice, terço médio e base) responderam à adubação nitrogenada. Provavelmente outros fatores como carboidratos e luz podem ter influenciado na atividade da RN (Figura 3F). É evidente que se devem proporcionar boas condições nutricionais para o cafeeiro para que haja boa produtividade, principalmente no que diz respeito ao nitrogênio porque este é o nutriente chave para o metabolismo de muitas enzimas (Taiz e Zeiger, 2004).

A atividade da RN apresenta comportamento diferente em função do sistema de parcelamento do nitrogênio. No sistema de aplicação único, a atividade ajusta-se à regressão linear, na qual a dose  $350 \text{ kg ha}^{-1}$  proporciona maior atividade da enzima (Figura 4). Por outro lado, o parcelamento em três aplicações também apresenta altas atividades, mas analisando o lado econômico, o sistema de aplicação único é mais conveniente, pois não interfere na produtividade. Com o sistema de aplicação único, além da economia com a mão de obra, não houve a alteração da produtividade, uma vez que esta não respondeu ao parcelamento do nitrogênio.

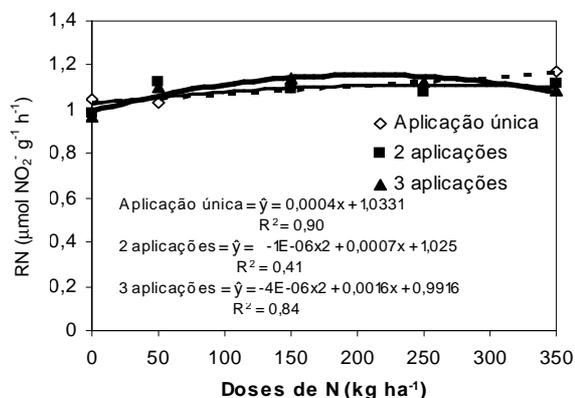
A atividade enzimática correlacionou positivamente com a produtividade do cafeeiro ( $R^2 = 0,89$ ) devido a seu papel regulador da disponibilidade de N reduzido para o metabolismo das plantas, principalmente em solos onde o nitrato é a principal forma de N disponível. A atividade da RN está relacionada com a produtividade e/ou sua capacidade em responder à adubação nitrogenada (Williams e Miller, 2001).

O efeito das doses de N sobre a produtividade foi significativo para o período avaliado. Isso pode ser explicado devido à produtividade bienal do cafeeiro, o que propiciou uma produção muito baixa no ano anterior. Verificou-se que o rendimento máximo foi alcançado com a dose de  $210 \text{ kg ha}^{-1}$  e ao efetuar a derivada da equação  $Y = -0,0065X^2 + 2,73303X + 1018,5$  verifica-se que a máxima produtividade do cafeeiro será na dose  $210 \text{ kg ha}^{-1}$  de nitrogênio (Figura 6). Tais resultados são contrastantes com aqueles obtidos para teor ideal de N nas folhas, pois os valores adequados são observados para a dose de  $150 \text{ kg ha}^{-1}$ , o que pode indicar uma necessidade de estabelecimento de valores adequados em diferentes cultivares (Malavolta, 1997).



**Figura 3.** Atividade da RN em posições na planta (ápice, terço médio e base) em função de doses de N (kg ha<sup>-1</sup>); A - Nov. (antes da aplicação do N); B - Nov. (7 dias após 1ª aplicação de N); C - Dez. (7 dias após 2ª aplicação de N); D - Jan. (7 dias após 3ª aplicação de N); E - Fev. (30 dias após 3ª aplicação de N); F - Mar. (60 dias após 3ª aplicação de N).

Em relação ao nitrogênio foliar, a análise dos dados propiciou um ajuste de regressão polinomial, constatando-se aumento do teor de nitrogênio à medida que a dose aumentava (Figura 7). De acordo com Malavolta *et al.* (1997), os teores foliares de nitrogênio considerados adequados para café em produção variam de 29-32 g kg<sup>-1</sup>. Tais valores foram obtidos com as doses de 50 a 150 kg ha<sup>-1</sup>, tanto em ano de baixa (2002/03) quanto em ano de alta produção (2003/04). Quando se aplicou a dose de 150 kg ha<sup>-1</sup>, a concentração de N foliar foi 33 g kg<sup>-1</sup>, a qual é considerada adequada para o estado nutricional do café.



**Figura 4.** Atividade da RN em função do parcelamento das doses de nitrogênio (kg ha<sup>-1</sup>).

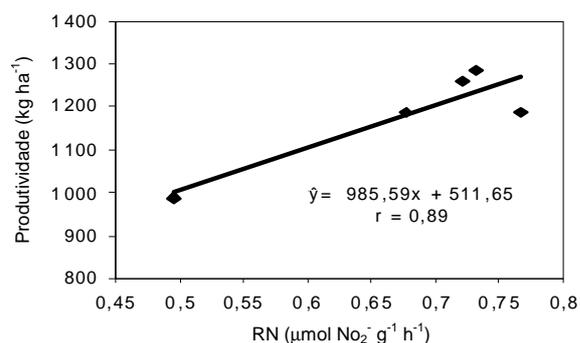


Figura 5. Correlação entre a atividade RN e produtividade do cafeeiro.

A atividade da RN correlacionou-se também com o nitrogênio foliar ( $R^2 = 0,96$ ), ficando evidente que o nitrogênio é um dos fatores que pode limitar a produção da cultura do cafeeiro, pois essa enzima é a primeira no processo de redução do nitrogênio na planta. A sua incorporação em esqueletos carbônicos pode melhor indicar a entrada do nitrogênio na planta (Williams e Miller, 2001).

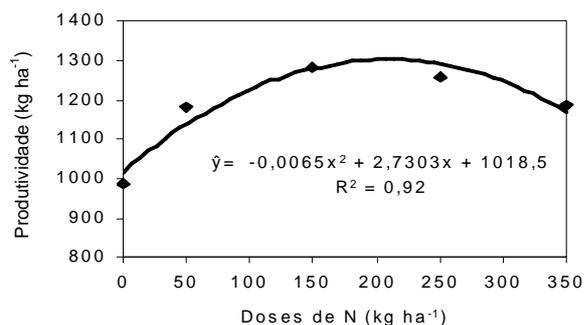


Figura 6. Produtividade do cafeeiro em função de doses crescentes de nitrogênio ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) no ano agrícola 2003/04.

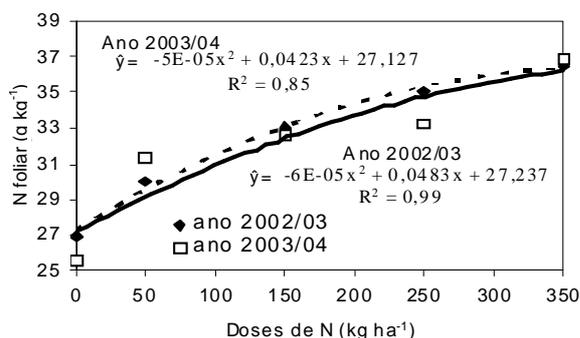


Figura 7. Teores de nitrogênio foliar (janeiro) em cafeeiro em função de doses crescente do nutriente ( $\text{kg ha}^{-1}$ ).

A produtividade do cafeeiro correlacionou-se com o teor de N nas folhas ( $r = 0,74$ ) somente para o ano agrícola 2003/04. Isto indica que tanto os teores de nitrogênio foliar como a atividade da RN

nas folhas durante a frutificação podem ser utilizados para estimar a necessidade de N pela cultura. O valor de coeficiente de determinação da atividade da RN, entretanto, apresentou maior valor que o teor de N.

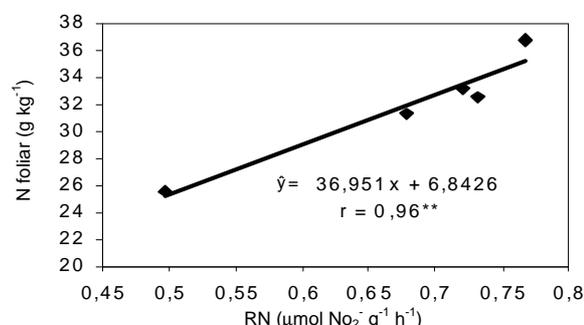


Figura 8. Correlação entre a atividade da RN e teor foliar de nitrogênio ( $\text{g kg}^{-1}$ ).

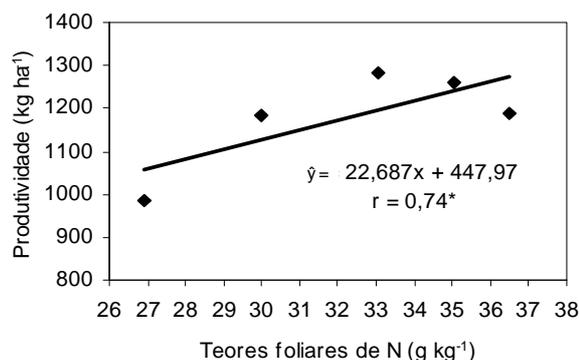


Figura 9. Relação entre o teor de N nas folhas ( $\text{g kg}^{-1}$ ) e a produtividade (Ano 2003/04).

**Conclusão**

A atividade da enzima redutase do nitrato responde à adubação nitrogenada, interferindo diretamente na produtividade. A atividade da RN correlaciona-se positivamente com o teor de nitrogênio nas folhas e com a produtividade do cafeeiro.

A região apical do cafeeiro apresenta, na maioria das vezes, atividades superestimadas da enzima redutase do nitrato, enquanto a região basal apresenta comportamento contrário.

O local mais adequado para a coleta de folhas de cafeeiro para análises laboratoriais de redutase do nitrato é o terceiro par de folhas no terço médio da planta, a mesma amostragem para diagnose foliar.

A dose  $350 \text{ kg ha}^{-1}$  proporciona maiores teores de N foliar. A dose  $210 \text{ kg ha}^{-1}$  proporciona maior produtividade e teores ideais de N foliar.

## Referências

- BACHMANN, M. *et al.* Partial purification and characterization of a calcium - dependent protein kinase and an inhibitor protein required for the activation of spinach leaf nitrate reductase. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, Los Angeles, v. 108, p. 1083-1091, 1995.
- BEEVERS, L.; HAGEMAN, R.H. Nitrate reduction in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, Los Angeles, v. 20, p. 495-522, 1969.
- CAMPBELL, W.H. Nitrate reductase structure function and regulation on bridging to gap between biochemistry and physiology. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, Los Angeles, v. 50, p. 277-303, 1999.
- CARELLI, M.L.C. *et al.* Redução de nitrato em plantas jovens de café cultivadas em diferentes níveis de luz e de nitrogênio. *Bragantia*, Brasília, v. 49, n. 1, p. 1-9, 1990.
- COELHO, A.M. *et al.* Balanço de nitrogênio ( $^{15}\text{N}$ ) em um latossolo vermelho-escuro, sob vegetação de cerrado, cultivado com milho. *Rev. Bras. Cienc. Solo*, Viçosa, v. 15, p. 187-193, 1991.
- EICHELBERGER, K.D. *et al.* Divergent phenotypic recurrent selection for nitrate reductase activity in maize. *Crop Sci.*, Madison, v. 29, p. 1393-1397, 1989.
- FERNANDES, M.S. *et al.* Efeitos da interação de  $\text{N-NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  na atividade da nitrato redutase e acumulação de N-protéico em *Brachiaria* sp. *Turrialba*, Costa Rica, v. 28, n. 3, p. 187-191, 1978.
- HERNANDEZ, F.B.T. *et al.* *Software Hidrisa e o balanço hídrico de Ilha Solteira*. Ilha Solteira: Unesp/FEIS, Área de Hidráulica e Irrigação, 1995. (Série Irrigação, 1).
- LAM, H.M. *et al.* The molecular-genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, Los Angeles, v. 47, p. 569-593, 1996.
- LI, X.Z.; OAKS, A. Induction and turnover of nitrate reductase in *Zea mays*. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, Los Angeles, v. 102, p. 1251-1257, 1993.
- MAGALHÃES, J.R. *et al.* N-partitioning, nitrate reductase and glutamine synthetase activities in two contrasting varieties of maize. *Pesq. Agropecu. Bras.*, Brasília, v. 36, n. 2, p. 249-256, 2001.
- MALAVOLTA, E. *et al.* *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997.
- MALAVOLTA, E. *Manual de nutrição mineral de plantas*. São Paulo: Editora Agronomica Ceres, 2006.
- MUCHOW, R.C.; DAVIS, R. Effect of nitrogen supply on the comparative productivity of maize and sorghum in a semi-arid tropical environment. *Field Crop Res.*, Dordrecht, v. 18, p. 17-30, 1988.
- OLIVEIRA, J.B. *et al.* *Mapa pedológico do estado de São Paulo: legenda expandida*. Campinas: Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo, 1999.
- QUEIROZ, C.G.S. *et al.* Ritmo diurno na atividade da redutase do nitrato em folhas e raízes de *Coffea arabica* L. *Pesq. Agropecu. Bras.*, Brasília, v. 28, n. 7, p. 787-795, 1993.
- RADIN, J.W. Distribution and development of nitrate reductase activity in germinating cotton seedlings. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, Los Angeles, v. 53, p. 458-463, 1974.
- RAIJ, B.V. *et al.* *Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo*. 2. ed., Campinas: Instituto Agrônomo & Fundação IAC, 1997. (Boletim Técnico n. 100).
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. In: BLOOM, J.A. (Ed.). *Assimilação de nutrientes minerais*. São Paulo: Artmed 2004. cap. 12, p. 286-307.
- WILLIAMS, L.E.; MILLER, A.J. Transporters responsible for the uptake and partitioning of nitrogenous solutes. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, Los Angeles, v. 52, p. 659-688, 2001.

Received on December 15, 2004.

Accepted on September 29, 2006.