

UFRRJ

**INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
CIÊNCIA DO SOLO**

DISSERTAÇÃO

**Cinética de Absorção de Nitrato e Amônio e
Produção de Grãos e Óleo de Girassol em Diferentes
Níveis de Nitrogênio e Boro**

Luiziane Soares Alves

2014



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
CIÊNCIA DO SOLO

**CINÉTICA DE ABSORÇÃO DE NITRATO E AMÔNIO E PRODUÇÃO
DE GRÃOS E ÓLEO DE GIRASSOL EM DIFERENTES NÍVEIS DE
NITROGÊNIO E BORO**

LUIZIENE SOARES ALVES

Sob a Orientação da Professora

Sonia Regina de Souza

e Co-orientação do Professor

André Marques dos Santos

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestra**, no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Ciência do Solo.

Seropédica, RJ
Maio de 2014

633.85

A474c

T

Alves, Luiziene Soares, 1988-

Cinética de absorção de nitrato e amônio e produção de grãos e óleo de girassol em diferentes níveis de nitrogênio e boro / Luiziene Soares Alves. – 2014.
35 f.: il.

Orientador: Sonia Regina de Souza.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, 2014.

Bibliografia: f. 30-35.

1. Girassol – Cultivo – Teses. 2. Girassol – Adubos e fertilizantes - Teses. 3. Girassol - Nutrição - Teses. 4. Plantas – Efeito do nitrogênio - Teses. 5. Óleo de girassol – Teses. I. Souza, Sonia Regina de, 1962- II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo. III. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta Dissertação, desde que seja citada a fonte.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA - CIÊNCIA DO SOLO**

LUIZIENE SOARES ALVES

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestra**, no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Ciência do Solo.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 29/05/2014

Sonia Regina de Souza. Dra. UFRRJ
Orientadora

José Guilherme Marinho Guerra. Dr. EMBRAPA/Agrobiologia

Fabíola de Sampaio Rodrigues Granzinoli Garrido. Dra. UFRRJ

AGRADECIMENTOS

À Deus e meus anjos da guarda por terem me dado força e iluminado meu caminho para conseguir superar meus desafios. Em especial por terem colocado tantas pessoas para citar que não caberiam nessa folha. Saravá.

À minha família, meu alicerce, por todo carinho e compreensão. Éramos seis, agora somos sete. Em especial a minha irmã Luizemara Soares Alves que me ajuda de todas as formas possíveis para que eu consiga realizar meus sonhos.

À minha orientadora Sonia Regina de Souza por ter me acolhido desde a graduação, sempre me dando força e acreditando no meu potencial. Obrigada de coração.

Ao meu co-orientador André Marques dos Santos pela paciência e conselhos durante a realização do meu trabalho.

Aos professores Manlio Silvestre Fernandes e Leandro Azevedo dos Santos pelas contribuições e ensinamentos científicos.

À Elvia Mariam Lis Martinez Stark e a Silvana Constantino Rocha pelas boas risadas e amizade.

Às minhas amigas Marcela Jacques, Camila Camilo e Cassiane Alves pela força, carinho e amizade, principalmente em momentos difíceis.

Em especial agradeço à todos os meus colegas de laboratório pelos momentos de descontração e pela paciência dos colegas frequentemente atingidos pela minhas perguntas.

Aos bolsistas de iniciação científica do laboratório de nutrição mineral de plantas e do laboratório de bioquímica de plantas pelo apoio na condução do meu trabalho.

A todos os funcionários da secretaria do Curso de Pós Graduação em Agronomia – Ciência do Solo.

À UFRRJ, Petrobras, CAPES e ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo por terem me proporcionado a oportunidade de realizar meu mestrado.

BIOGRAFIA

Luiziene Soares Alves nasceu em 01 de fevereiro de 1988, no município de Cachoeira Paulista (SP). Concluiu o ensino médio no Instituto Canção Novo no ano de 2005. No ano de 2008 ingressou no curso de Licenciatura em Ciências Agrícolas na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, diplomando-se em 2011. Durante a graduação foi bolsista de Iniciação Científica no Laboratório de Nutrição de Plantas, sob a orientação da Professora Sonia Regina de Souza. Em junho de 2012 iniciou o mestrado no Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo da UFRRJ, desenvolvendo trabalhos relacionados ao metabolismo de nitrogênio e boro em plantas de girassol.

RESUMO

ALVES, Luiziene Soares. **Cinética de absorção de nitrato e amônio e produção de grãos e óleo de girassol em diferentes níveis de nitrogênio e boro** 2014. 35f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

O girassol (*Helianthus annuus* L.) é uma oleaginosa economicamente importante, pois produz óleo de alta qualidade tanto para a indústria alimentícia como para a de biocombustíveis. Com a crescente demanda por energias renováveis, o avanço no conhecimento sobre a produção do óleo de girassol torna-se cada vez mais necessário, para viabilizar a geração sustentável de um biocombustível de alta qualidade. Dentre os fatores que podem ser estudados para a produção do óleo, há a adubação nitrogenada, que pode ser considerada limitante no crescimento, metabolismo e rendimento de óleo para plantas de girassol. E também a aplicação o boro, um micronutriente importante para desenvolvimento e produção de grãos em girassol. Este trabalho visa avaliar a influencia que o fornecimento diferencial de nitrogênio e boro pode exercer sobre a produção de grãos e óleo, e estudar a eficiência de absorção de nitrato e amônio em plantas de girassol. Para tal, foram realizados dois estudos. O primeiro foi realizado com plantas de girassol do genótipo Neon em solução nutritiva, para avaliar os parâmetros cinéticos de absorção, V_{max} e K_m , sob condições de alto e baixo suprimento de nitrato e amônio. Já o segundo, foi realizado em casa de vegetação para avaliar os efeitos de doses diferentes de nitrogênio e boro sobre a produção de grãos e óleo dos genótipos de girassol Neon e BRS321. No primeiro experimento, as plantas cultivadas com $N-NH_4^+$ apresentaram maior V_{max} e menor volume radicular do que as plantas cultivadas com $N-NO_3^-$. Isto ocorre devido ao $N-NH_4^+$ ser prontamente assimilado no citosol das células das raízes, ou ainda, pode ser indicio de maior número de sítios de transporte para esse íon nas raízes. Apesar de apresentarem menor valor de V_{max} , as plantas supridas com 2,0 mM de $N-NO_3^-$ apresentaram maior biomassa do que as plantas supridas com $N-NH_4^+$, o que pode indicar um maior potencial de utilização do N. Quando cultivadas com 0,2 mM de $N-NO_3^-$ ou $N-NH_4^+$, as plantas não apresentaram preferencia pela fonte de N. Através da análise do teor de $N-NO_3^-$, o pecíolo foi indicado como o compartimento preferencial para o acúmulo de $N-NO_3^-$. No segundo experimento ambos os genótipos foram responsivos a adubação borácica. A combinação entre maior adubação de B com adubação nitrogenada foi primordial para a produção de óleo e grãos para o genótipo BRS321. Já o genótipo Neon no tratamento com B + 10 kg de N.ha⁻¹ apresentou produção de grãos cheios, equivalente ao tratamento sem B + 50 kg de N.ha⁻¹ demonstrando o efeito benéfico da aplicação de boro para a produção de grãos e economia de fertilizantes nitrogenados para este genótipo. Além disso, os resultados das análises dos teores de N, em ambos os genótipos, indicam que o limbo pode ser um parâmetro sensível para avaliar o status de N na planta.

Palavras-chave: *Helianthus annuus* L. Oleaginosa. Valores de K_m e V_{max} .

ABSTRACT

ALVES, Luiziene Soares. **Kinetics of absorption of nitrate and ammonium and production of grain and oil of sunflower at different levels of nitrogen and boron.** 2014. 35p. Dissertation (Master Science in Agronomy - Soil Science). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2014.

The sunflower (*Helianthus annuus* L.) is an economically important oilseed due to the high-quality oil produced both for food industry and biofuels. In face of increasing demands for renewable energy, knowledge about improvement of sunflower oil production is increasingly necessary to make it sustainable. Among the factors for oil production, nitrogen fertilization could be a limiting factor on the growth, metabolism, and production rate of sunflower. Also the application of boron that is a micronutrient with relevant roles for development and grain output. This work aims to evaluate how nitrogen and boron supplies influence oil and grain output, and to analyze the nitrate and ammonium uptake in sunflower. For this study, two experiments were developed. The first one was done with Neon genotype on nutrient solution, to analyze uptake kinetic parameters in high and low nitrate and ammonium supply. The second one was in greenhouse conditions for oil and grain output analysis with different doses of nitrogen and boron, to investigate the effect of this variation on Neon and BRS321 genotypes. Samples from the first experiment, which were cultivated on N-NH₄⁺ solution, presented high $V_{máx}$ and low root volume in comparison with N-NO₃⁻ supplied ones. This is due to N-NH₄⁺ being assimilated immediately in the cytosol of roots cells, and the presence of more moving sites for this ion on its roots. Despite this result it presents low $V_{máx}$ values, the plants supplied with 2.0 mM of N-NO₃⁻ showed higher biomass than N-NH₄⁺, and that might indicate an greater potential use of N. When cultivated with 0.2 mM of N-NO₃⁻ or N-NH₄⁺, the plants showed no preference for N source. Through the analysis of N-NO₃⁻ concentration, the petiole was pointed as the main plant part for N-NO₃⁻ accumulation. The second experiment showed that both genotypes were responsive for the boron fertilization. The combination of higher boron and nitrogen fertilization was beneficial to oil and grain output for the BRS321 genotype. For the Neon genotype, the treatment with boron + 10 kg de N.ha⁻¹ showed a production of filled grain equivalent to the treatment without boron + 50 kg de N.ha⁻¹. This result demonstrates a positive effect of the boron application for grain output and in saving nitrogen fertilizer for this genotype. Furthermore, the analysis of N levels, in both genotypes indicated that the limbo can be a sensitive parameter for evaluating plant N status.

Key-words: *Helianthus annuus* L. Oilseed. K_m and $V_{máx}$.

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Análise química de amostras compostas (0-20 cm profundidade) de argissolo, coletado na EMBRAPA-Agrobiologia, realizada antes do plantio dos genótipos de girassóis.	11
Tabela 2. Parâmetros cinéticos de plantas do híbrido Neon de girassol cultivadas em diferentes níveis (0,2 e 2,0 mM) e fontes (NO_3^- e NH_4^+) de N.	15
Tabela 3. Volume do sistema radicular das plantas do híbrido Neon de girassol submetidas ao ressuprimento de N-NO_3^- e N-NH_4^+ após 72 horas de privação de N.	16
Tabela 4. Massa fresca (g planta^{-1}) de plantas de girassol do híbrido Neon submetidas ao ressuprimento de N-NO_3^- e N-NH_4^+ após 72 horas de privação de N.	17
Tabela 5. N-total e conteúdo de N de folha, pecíolo, caule e raiz do híbrido Neon de girassol.	17
Tabela 6. Massa seca (g.planta^{-1}) de plantas de girassol dos híbridos Neon e BRS321 cultivados em casa de vegetação.	21
Tabela 7. Número de grãos cheios e chochos ($\text{n}^\circ.\text{planta}^{-1}$) e percentagem de óleo dos genótipos Neon e BRS321 cultivados em casa de vegetação com diferentes tratamentos com N e B.	22
Tabela 8. Produção de grãos (g.capítulo^{-1}) e produção de óleo (g.capítulo^{-1}) dos genótipos Neon e BRS321 cultivados em casa de vegetação com diferentes tratamentos com N e B.	23
Tabela 9. Teores de N-total de grão, capítulo, limbo, pecíolo, caule, raiz e solo dos genótipos Neon e BRS321 cultivados em casa de vegetação com diferentes tratamentos com N e B.	25
Tabela 10. Conteúdo de N no grão, capítulo, limbo, pecíolo e caule dos genótipos Neon e BRS321 cultivados em casa de vegetação com diferentes tratamentos com N e B.	25
Tabela 11. Teores de boro (mg.kg^{-1}) nos grãos, capítulo, limbo, pecíolo, caule, raiz, inflorescência e solo dos genótipos Neon e BRS321 cultivados em casa de vegetação com diferentes tratamentos com N e B.	27
Tabela 12. Conteúdo de B (mg.planta^{-1}) nos grãos, capítulo, limbo, pecíolo, caule e inflorescência dos genótipos Neon e BRS321 cultivados em casa de vegetação com diferentes tratamentos com N e B.	28

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Fases reprodutivas (R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8 e R9) de plantas de girassol cultivadas em casa de vegetação, conforme descritas por Schneiter; Miller (1981). 3
- Figura 2.** Esquema representativo do transporte de ácido bórico. NIP5;1 expresso na epiderme (EP), no córtex (CO) e endoderme (EN) das raízes, em condições de baixo suprimento de boro. BOR1 localizado no periciclo (PC). (Adaptado de TANAKA; FUJIWARA, 2008). 6
- Figura 3.** Esquema da condução do experimento de sistema hidropônico em câmara de crescimento com plantas de girassol submetidas a diferentes tratamentos com NO_3^- e NH_4^+ 7
- Figura 4.** Plantas de girassol do genótipo Neon cultivadas em sistema hidropônico em câmara de crescimento da UFRRJ, em vasos com capacidade de 2,8 L com solução nutritiva a ½ força iônica, com NO_3^- (0,2 e 2,0 mM) e NH_4^+ (0,2 e 2,0 mM). Em (a) aos 10 dias e em (b) aos 19 dias após a germinação. (Foto: arquivo pessoal) 8
- Figura 5.** Modelo da condução do experimento em casa de vegetação com plantas de girassol dos híbridos Neon e BRS321, cultivados em diferentes níveis de N e B. 10
- Figura 6.** Plantas de girassol cultivadas em casa de vegetação no Departamento de Solos da UFRRJ, submetidas aos tratamentos: I- com B e 10 kg de $\text{N} \cdot \text{ha}^{-1}$ no plantio + suplementação de 40 kg de $\text{N} \cdot \text{ha}^{-1}$; II- com B e 10 kg de $\text{N} \cdot \text{ha}^{-1}$ no plantio; III- sem B e 10 kg $\text{N} \cdot \text{ha}^{-1}$ no plantio + suplementação de 40 kg $\text{N} \cdot \text{ha}^{-1}$; IV – sem B e 10 kg de $\text{N} \cdot \text{ha}^{-1}$ no plantio. 11
- Figura 7** Efeito das concentrações de 0,2 mM (A) e 2,0 mM (B) de NO_3^- e NH_4^+ sobre a variação temporal do pH e as curvas de depleção de plantas do híbrido Neon em solução nutritiva contendo 0,2 e 2,0 mM de NO_3^- (C) ou NH_4^+ (D), após 72h de privação de N. 14
- Figura 8.** Teores de N- NO_3^- (a, b), N- NH_4^+ (c, d), N-Amino livre (e, f) e Açúcares solúveis (g, h) em plantas de girassol do híbrido Neon submetidas ao ressuprimento de 0,2 e 2,0 mM de NO_3^- ou NH_4^+ , após 72h de privação de N. As barras representam o erro padrão médio das repetições. 19
- Figura 9.** Conteúdo ($\text{g} \cdot \text{vaso}^{-1}$) de N- NO_3^- (a, b), N- NH_4^+ (c, d), N-Amino livre (e, f) e Açúcares solúveis (g, h) em plantas de girassol do híbrido Neon submetidas ao ressuprimento de 0,2 e 2,0 mM de NO_3^- ou NH_4^+ , após 72h de privação de N. As barras representam o erro padrão médio das repetições. 20
- Figura 10** – Correlação entre o número de grãos cheios produzido ($\text{n}^\circ \cdot \text{planta}^{-1}$) e a produção óleo dos genótipos Neon (A) e BRS321 (B). 23
- Figura 11.** Correlação entre a produção de óleo ($\text{g} \cdot \text{capítulo}^{-1}$) e a produção de grãos cheios ($\text{g} \cdot \text{capítulo}^{-1}$) dos genótipos de girassol Neon (A) e BRS321 (B). 24
- Figura 12.** Conteúdo de N nos grãos (A) e na parte aérea (B) dos genótipos Neon e BRS321 cultivados em casa de vegetação com diferentes tratamentos com N e B. As barras representam o erro padrão médio das repetições. 26

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 A Cultura do Girassol	2
2.2 Nitrogênio	3
2.3 Boro	5
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	7
3.1 Avaliação dos Parâmetros Cinéticos de Absorção de $N-NO_3^-$ e $N-NH_4^+$ em Plantas de Girassol - Híbrido Neon	7
3.1.1 Dosagem das frações solúveis no material vegetal fresco.....	8
3.1.2 Dosagem de N-total no material vegetal seco	9
3.2 Avaliação da Produção de Óleo e Metabolismo de Girassol Sob Diferentes Níveis de Nitrogênio e Boro.	10
3.2.1 Extração do óleo de girassol.....	11
3.2.2 Determinação de B no material vegetal.....	12
3.2.3 Determinação de B no solo.....	12
3.2.4 Dosagem de N-total no material vegetal seco e no solo.....	12
3.3 Análise Estatística.....	12
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
4.1 Experimento de Cinética de Absorção de $N-NO_3^-$ e $N-NH_4^+$	13
4.1.1 pH e curvas de depleção de NO_3^- ou NH_4^+ da solução nutritiva de cultivo de plantas de girassol do híbrido Neon.....	13
4.1.3 Parâmetros cinéticos de absorção de N	15
4.1.4 Massa fresca e volume radicular de plantas de girassol do híbrido Neon cultivadas com 0,2 e 2 mM de NO_3^- ou NH_4^+	16
4.1.5 Análise do material vegetal seco	17
4.1.6 Análises do material vegetal fresco	17
4.2 Avaliação da Produção de Óleo e Metabolismo de Girassol sob Diferentes Níveis de Nitrogênio e Boro	21
4.2.1 Massa seca e produção de grãos e óleo	21
4.2.2 Teores e conteúdos de N e B no material vegetal e no solo	24
5. CONCLUSÕES.....	29
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1. INTRODUÇÃO

O girassol (*Helianthus annuus* L.), dentre as oleaginosas, apresenta características agronômicas importantes, como maior resistência à seca, ao frio e ao calor do que a maioria das espécies normalmente cultivadas no Brasil. Fatores como latitude, altitude e fotoperíodo exercem pouca influencia sobre o rendimento da cultura. Como apresenta uma ampla adaptabilidade às diferentes condições edafoclimáticas essa espécie é considerada uma boa opção nos sistemas de rotação e sucessão de culturas nas regiões produtoras de grãos (CASTRO et al., 1997). É uma das oleaginosas promissoras que podem satisfazer as necessidades do mercado de biocombustíveis, pelo seu elevado teor de ácidos graxos insaturados (RAMOS et al., 2009). O óleo de girassol é o quarto óleo vegetal mais importante no comércio mundial, cerca de 9 milhões de toneladas são produzidas anualmente e são mais de 22 milhões de hectares de superfície cultivada, concentradas principalmente na Rússia, Ucrânia, Índia e Argentina totalizando cerca de 50% da área de cultivo no mundo (FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2009). A produção de óleo pelo girassol está na faixa de 39 a 49%, sendo geralmente considerado um óleo *premium* por causa da sua cor, e do seu nível elevado de ácidos graxos insaturados (QAHAR et al., 2010).

Zagonel;Mundstok (1991) observaram que o rendimento em óleo do girassol é influenciado tanto pelo número de aquênios quanto pelo teor de óleo produzido pela planta e que varia com a dose e época de aplicação do nitrogênio durante o cultivo. Abdel-Motagally; Osman (2010) observaram que o aumento de N no solo, devido à fertilização, causa um aumento nas células vegetais e grande número de folhas, levando ao aumento da componente de produção e da produção de grãos por unidade de área.

O girassol está entre as plantas mais sensíveis à deficiência de boro (B), sendo essa espécie muito usada como indicador deste elemento no solo (DECHEN; NAHTIGALL, 2006). O boro tem grande importância na fase de florescimento, no crescimento do tubo polínico, no metabolismo de nitrogênio, na atividade hormonal e nos processos de frutificação do girassol (DECHEN; NAHTIGALL, 2006). A cultura do girassol é tolerante a altas concentrações de B, no entanto, certos cuidados devem ser tomados na sua aplicação, pois há culturas em sistema de rotação com o girassol sensíveis ao boro (SOUZA et al., 2004).

A disponibilidade de B é afetada por fatores como: pH da solução do solo, textura, umidade e temperatura. Dentre eles o pH é um dos mais importantes, pois com o aumento do pH na solução do solo, o B torna-se menos disponível para as plantas. Portanto, a aplicação de calcário para diminuir a acidez pode resultar em deficiência de B em plantas (GOLDBERG, 1997). Na cultura do girassol, no que diz respeito à exigência de boro, Calle Manzano (1985) destaca que perdas entre 15% a 40% da produção de sementes, podem ocorrer devido à deficiência desse micronutriente no solo. Os solos brasileiros são, em sua maioria, pobres em boro (SOUZA et al., 2004), aumentando, portanto a exigência de adubação adequada.

A hipótese do estudo é que combinações de doses de nitrogênio e boro para o cultivo de genótipos de girassol resultam em respostas diferenciadas na cinética e no metabolismo desses nutrientes, e influenciam a produção de grãos e óleo.

Como o nitrogênio e o boro são essenciais para as plantas de girassol, o objetivo do trabalho foi avaliar a influencia que o fornecimento diferencial desses nutrientes pode exercer sobre a produção de grãos e óleo, e estudar a eficiência de absorção de nitrato e amônio em girassol.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A Cultura do Girassol

O girassol (*Helianthus annuus* L.) é uma oleaginosa pertencente à família *Asteraceae*, cujo provável centro de origem é a América do Norte (CASTRO et al., 1997), apresenta um sistema radicular pivotante e inflorescência do tipo capítulo (CASTIGLIONI et al., 1997). O óleo produzido pela planta é encontrado nos grãos que são conhecidos como aquênios (FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2009). De acordo com Nobre et al. (2010) o diâmetro do capítulo tem influência sobre a produção de aquênios, o qual é influenciado pela disponibilidade ou salinidade de água.

De acordo com Schneiter; Miller (1981) o desenvolvimento do girassol pode ser dividido em duas fases: vegetativa e reprodutiva. A fase vegetativa inicia-se com a germinação compreendendo o período de formação das folhas. A fase reprodutiva do girassol inicia-se com aparecimento do broto floral e termina com a maturação fisiológica da planta. Esta segunda fase pode ser dividida em nove etapas (Figura 1): R1, quando surge o broto floral; R2, início do alongamento do broto floral; R3, segunda etapa de alongamento do broto floral; R4, inicia-se o florescimento com o aparecimento das flores liguladas; R5, surgem as flores tubulares; R6, todas as flores tubulares estão abertas e as liguladas murchas; R7, inicia-se o desenvolvimento dos aquênios; R8, segunda fase de desenvolvimento dos aquênios; R9, quando as plantas atingem a maturação fisiológica, onde as brácteas apresentam-se de coloração amarela ou castanha.

A cultura do girassol apresenta um ciclo curto que varia de 90 a 130 dias, e devido a isso, pode ser utilizada como uma opção nos sistemas de rotação, consórcio e sucessão de culturas (FAGUNDES, 2002). Os genótipos de girassol respondem de forma diferenciada em relação a sua exigência nutricional, mesmo quando cultivados nas mesmas condições ambientais e nutricionais (IVANOFF et al., 2010). A escolha de genótipos mais adaptados a determinada condição ambiental é muito importante para o desenvolvimento da produção agrícola de girassol no Brasil, pois a maioria dos genótipos utilizados são oriundos de outros países (PORTO et al., 2009).

A importância da cultura deve-se ao seu óleo que apresenta excelentes características físico-químicas e nutricionais, rico em ácidos graxos poli-insaturados, principalmente linoleicos (CASTRO et al., 1997).

A demanda por óleos vegetais vem crescendo nos últimos anos, devido à busca por alternativas renováveis de energia. Nesse contexto a cultura do girassol apresenta-se como uma alternativa viável, por ter um óleo de qualidade e por poder ser produzida em grande escala (ZOBIOLE et al., 2010). Atualmente se discute qual seria uma possível oleaginosa com potencial para a produção de biocombustíveis, dentre elas destaca-se o girassol.

Um dos fatores a ser levado em consideração na produção de biodiesel é a sua estabilidade, a qual é influenciada pela composição do óleo vegetal. Em baixas temperaturas, ésteres graxos saturados ficam mais viscosos e pode sofrer cristalização, o que pode causar entupimento dos filtros de óleo e do sistema de injeção (RAMOS et al., 2003). Cadeias insaturadas reduzem essa possibilidade de solidificação do biodiesel (KNOTHE, 2008), resultando em uma vantagem para a produção de biodiesel a partir de girassol. Entretanto cadeias insaturadas são mais suscetíveis à oxidação, enquanto que cadeias saturadas apresentam melhor estabilidade (RAMOS et al., 2009), portanto, devido ao fato do óleo de girassol apresentar cerca de 80% dos seus ácidos graxos insaturados, é necessário o uso de

aditivos para a sua estabilização (SOARES, 2008). Ferrari; Souza (2009) verificaram que o biocombustível produzido a partir do óleo de girassol apresenta as particularidades necessárias para ser utilizado no motor a diesel e, além disso, quando foram adicionados antioxidantes, principalmente o TBHQ, elevou-se a estabilidade do óleo.

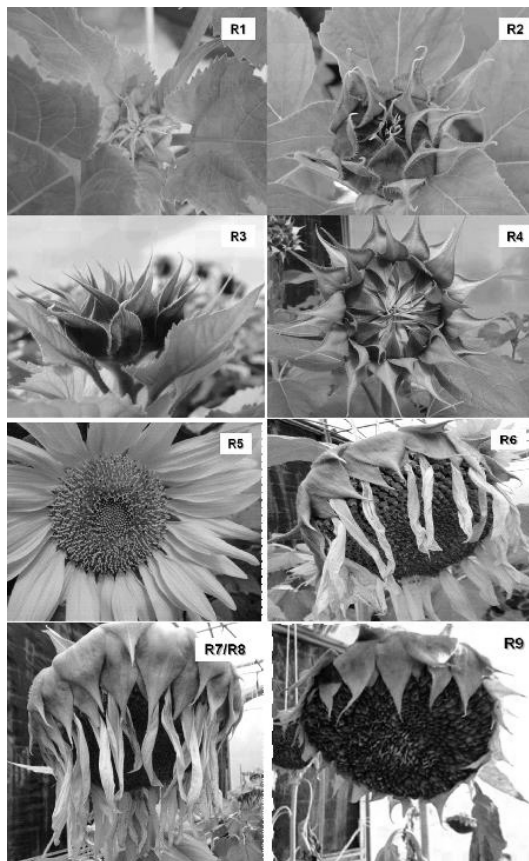


Figura 1. Fases reprodutivas (R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8 e R9) de plantas de girassol cultivadas em casa de vegetação, conforme descritas por Schneiter; Miller (1981). (Foto: arquivo pessoal)

2.2 Nitrogênio

O nitrogênio (N) é um dos elementos requeridos em maior quantidade pelas plantas, sendo fator limitante para o crescimento. Devido a ser exigido em grandes quantidades pelos vegetais, o setor agrícola utiliza o N em grande escala, e muitas vezes de maneira inadequada. Atualmente busca-se a melhor eficiência no uso de nutrientes pelas plantas, pois o alto custo dos fertilizantes comerciais onera a produção, além de danos ambientais associados ao uso indiscriminado de fertilizantes nitrogenados (GOOD et al., 2004).

Almeja-se a criação de planta modelo, aliando grande produtividade de grãos com qualidade em condições de baixa disponibilidade de nutrientes, devido a alta eficiência na absorção, assimilação, reciclagem e remobilização de nitrogênio (CHARDON et al., 2012).

Na solução do solo podemos encontrar o N sob várias formas, mas as principais absorvidas pelas plantas são o nitrato (NO_3^-) e o amônio (NH_4^+) (WILLIAMS; MILLER, 2001; HAWKESFORD et al., 2012). A absorção do NO_3^- é um processo ativo, o qual ocorre devido à atividade das bombas de H^+ que geram a energia que permite a entrada do íon na célula (SOUZA; FERNANDES, 2006). O mecanismo de absorção do NO_3^- está correlacionado com o pH do apoplasma, quando fornecido um alto suprimento de NO_3^-

observa-se um aumento do pH, o qual pode ser explicado pelo processo de absorção de NO_3^- ser através de um simporte ($\text{NO}_3^- / 2\text{H}^+$) (SANTOS et al., 2011). Já a entrada do NH_4^+ na célula ocorre por um processo de absorção passiva, ou seja, a favor do gradiente de potencial eletroquímico, através de um transportador do tipo uniporte (SOUZA; FERNANDES, 2006).

O transporte desses íons para dentro das células é realizado por dois sistemas de transporte, nomeados de sistema de alta afinidade (HATS - “High Affinity Transport System”), o qual opera em baixas concentrações do nutriente, e de sistema de baixa afinidade (LATS - “Low Affinity Transport System”), o qual opera em concentrações superiores a 1mmol L^{-1} . Os sistemas de alta afinidade são divididos em constitutivos, operando em baixas concentrações do nutriente (cHATS) e induzidos (iHATS), ativados por baixas concentrações externas do nutriente (SIDDIQI et al., 1990; ASLAM et al., 1992; ASLAM et al., 1993; SANTOS, 2006). A identificação desses transportadores e suas funções na planta, tais como sensores e fatores de transcrição, foram avanços importantes para uma melhor compreensão da regulação do uso de N pelas plantas (XU et al., 2012).

A forma nítrica é a principal fonte de N para as plantas, e está presente em vários processos metabólicos dos vegetais, tais como absorção, armazenamento vacuolar, transporte do xilema, entre outros (WICKERT et al., 2007; MOKHELE et al., 2011). A entrada do NO_3^- na célula é mediada por duas famílias específicas de transportadores de membrana codificados pelos genes *NRT* (nitrate transporter): a NRT1, de baixa afinidade, e a NRT2, de alta afinidade pelo substrato (SOUZA; FERNANDES, 2006; TSAY et al., 2007; GOJON et al., 2011). Dentre os transportadores de NO_3^- o NRT1.1, presente nas células do ápice das raízes, é o único que apresenta dupla-afinidade, ou seja, atua em diferentes concentrações de NO_3^- , e além disso, é também um mediador da indução do NRT2.1 presentes nas células da epiderme e do córtex (VERT; CHORY, 2009).

Os sistemas de transporte do íon NH_4^+ (AMT – *ammonium transporter*) apresentam a família dos AMT1, de alta afinidade, subdividida em AMT1.1, AMT1.2, AMT1.3, AMT1.4 e AMT1.5 e a família dos AMT2, de baixa afinidade (SOUZA ; FERNANDES, 2006).

A via de assimilação do NO_3^- inicia-se com a sua redução a NH_4^+ , já que esta é a única forma disponível para as plantas assimilarem. O NH_4^+ , além de ser proveniente da redução do NO_3^- , também pode ser diretamente absorvido pelas raízes (WICKERT et al., 2007). Uma vez absorvido, o NO_3^- pode ser reduzido a NH_4^+ ou pode ser armazenado no vacúolo. Se reduzido, o processo pode ser dividido em duas etapas: a primeira ocorre no citossol onde o NO_3^- é reduzido a NO_2^- pela ação da enzima nitrato redutase (NR); a segunda ocorre no cloroplasto onde o NO_2^- é reduzido a NH_4^+ pela ação da nitrito redutase (NiR) (TISCHNER, 2000). Para que o NH_4^+ seja assimilado são necessárias enzimas que incorporem o nutriente em esqueletos de carbono. As principais enzimas que medeiam esse processo são a glutamina sintetase (GS), a glutamato sintase (GOGAT) e glutamato desidrogenase (GDH) (LAM et al., 1996; SOUZA; FERNANDES, 2006).

O nitrogênio pode ser um fator limitante para o crescimento das plantas. Para a cultura do girassol este nutriente é primordial para a produção de grãos e óleo. Trabalhos demonstram que de acordo com a dose de N aplicada pode-se aumentar ou diminuir o rendimento de óleo. No estudo realizado por Zagonel; Mundstock (1991) as cultivares de girassol utilizadas responderam de maneira diferenciada a adubação nitrogenada, para a cultivar Contisol 711 os teores de óleo diminuíram na maior dose de N ($120\text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$), já para a cultivar DK180 o efeito foi oposto. Rocha 2013 verificou que com baixas doses de N (de 30 a $50\text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) o genótipo BRS324 apresentou maior produção de óleo, a qual diminuiu com doses mais elevadas.

Vale ressaltar que os genótipos de girassol podem apresentar respostas diferenciadas em relação à fertilização, por esse motivo é importante à realização de estudos para caracterizar as particularidades dos diferentes genótipos utilizados para a produção de grãos e óleo, e assim, realizar o manejo de N adequado para uma melhor rentabilidade na produção.

2.3 Boro

O boro (B) é um dos micronutrientes essenciais para as plantas (GUPTA, 2007). Este elemento é absorvido pelas plantas principalmente na forma de ácido bórico, em solos alcalinos provavelmente é absorvido como ânion borato (DECHEN; NATCHTIGALL, 2006). Sua disponibilidade para as plantas diminui em solos alcalinos. Solos de áreas com alta pluviosidade, como o Sudoeste da Ásia, Japão e Brasil, com quantidades de B inferior a $0,3 \text{ mg.mL}^{-1}$ apresentam deficiência desse micronutriente, uma vez que este é facilmente lixiviado (BROADLEY et al., 2012).

O B absorvido pelas raízes é transportado à longa distância via xilema (ENGELS et al., 2012). Nachiangmai et al. (2004) trabalhando com diferentes cultivares de trigo observaram maiores concentrações de B nas espigas em determinado genótipo, segundo os autores o B é encontrado nas espigas devido a maior capacidade do genótipo em transportar o B, impulsionado pela transpiração foliar, a longa distância através do xilema.

De acordo com Brown; Shelp (1997) o B tem sua mobilidade restrita em algumas espécies enquanto que em outras pode ser altamente móvel. A mobilidade do nutriente está relacionada com a presença de compostos polióis no floema, nos quais o elemento se liga (SIEBENEICHLER et al., 2005). A presença de B nos diferentes órgãos de uma espécie pode ser uma evidência da sua mobilidade (BROWN; SHELP, 1997).

Acreditava-se que o principal transporte de B era realizado por difusão passiva, entretanto estudos identificaram canais e transportadores de B, expressos sob baixa nutrição borácica, NIP5 e BOR1, o que tornou possível o estudo molecular, do transporte de B (Figura 2) (TAKANO et al., 2008). Como, por exemplo, no trabalho realizado por Uruguchi et al. (2014) em que a superexpressão do transportador AtBOR1 de *Arabidopsis thaliana*, em plantas de tomate, melhorou o crescimento da cultura em ambientes onde há deficiência de B.

A função do B na nutrição de plantas ainda é pouco compreendida, fato que precisa ser mudado, pois a exigência de B em eudicotiledoneas é maior quando comparada a outros micronutrientes, como por exemplo, em plantas de girassol (BROADLEY et al., 2012).

O B está relacionado com o desenvolvimento e alongação das células. Além disso, o B é fundamental para integridade estrutural da parede celular (POWER; WOODS, 1997), atuando na biossíntese da parede celular, auxiliando o Ca na deposição e formação de pectatos presentes na parede celular. Segundo KRUDNAK et al., (2013), o B também está relacionado com a viabilidade do pólen e das sementes em plantas de girassol. A deficiência deste elemento traz grandes prejuízos às plantas, afeta diretamente o sistema radicular, inibe o alongamento e crescimento das raízes (GUPTA, 2007), pode causar o abortamento do botão floral e pode gerar acúmulo de compostos nitrogenados nas partes mais velhas da planta (DECHEN; NATCHTIGALL, 2006). O girassol está entre as plantas mais sensíveis à deficiência de B (SOUZA, 2004). Tahir et al. (2013) trabalhando com doses crescentes de B em plantas de girassol, observaram que na maior dose de B aplicada (500 g B ha^{-1}), na forma de ácido bórico, ocorreram os maiores teores de óleo e rendimento de aquênios. Lima et al. (2013) trabalhando com diferentes níveis de adubação borácica verificou que a dose de 4 kg.ha^{-1} de boro apresentou os melhores resultados de massa média de aquênios, produtividade de aquênios e produção de óleo.

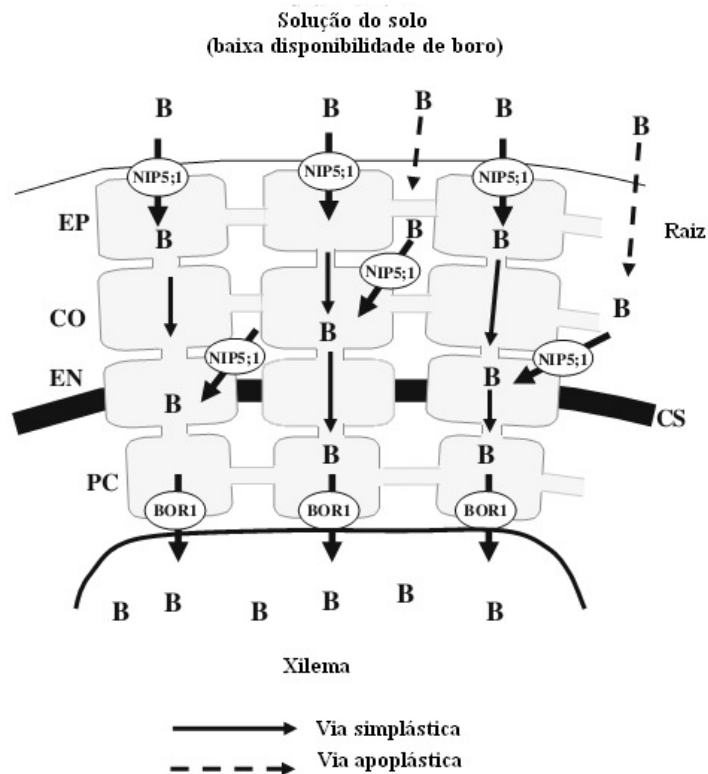


Figura 2. Esquema representativo do transporte de ácido bórico. NIP5;1 expresso na epiderme (EP), no córtex (CO) e endoderme (EN) das raízes, em condições de baixo suprimento de boro. BOR1 localizado no periciclo (PC). (Adaptado de TANAKA; FUJIWARA, 2008).

Estudos mostram que o B também influencia o metabolismo de N. Cervilla et al., (2008) trabalhando com duas cultivares de tomate observaram que a toxicidade do B causa a inibição da atividade da nitrato redutase e diminuição da concentração de N orgânico em ambas cultivares. Além disso, constataram um aumento da atividade das enzimas envolvidas na assimilação do NH_4^+ , sugerindo que essa toxicidade ajudaria a evitar o acúmulo de NH_4^+ nas plantas. Kastori; Petrovic (1989) também já haviam observado a redução da atividade da nitrato redutase em plantas de girassol tanto na deficiência do elemento quanto sob alta nutrição com boro.

Devido à importância do B para o desenvolvimento dos capítulos e conseqüentemente para a produção de grãos em girassol, e o fato deste nutriente ser exigido em grandes quantidades por esta cultura, uma maior aplicação de B pode ocasionar respostas diferenciadas entre genótipos tanto na produção de óleo quanto na produção de grãos, sendo necessários estudos mais detalhados da influência deste nutriente sobre o girassol.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Avaliação dos Parâmetros Cinéticos de Absorção de N-NO_3^- e N-NH_4^+ em Plantas de Girassol - Híbrido Neon

O experimento foi conduzido em câmara de crescimento, localizada no Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde as plantas foram submetidas à fotoperíodo de 14h/10h (luz/escuro) com luminosidade de $500\mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (fluxo de fótons fotossintéticos), umidade relativa do ar de 50% e temperatura $28^\circ\text{C}/26^\circ\text{C}$ (diurna/noturna). Nesse experimento, o híbrido Neon de girassol (*Helianthus annuus* L.), foi avaliado quanto aos parâmetros cinéticos envolvidos na absorção dos nutrientes estudados e foi verificada a relação desses parâmetros, com diferentes aspectos do metabolismo desse genótipo de girassol.

A semeadura foi realizada em areia lavada e autoclavada. Cerca de dez dias após a germinação as plântulas foram transferidas para vasos com capacidade de 2,8L (duas plantas por vaso) (Figura 3). Os vasos receberam solução de Hoagland; Arnon (1950) a $\frac{1}{4}$ da força iônica total modificada com 1,0 mM de N-NO_3^- e 0,5 mM de N-NH_4^+ . Após três dias, as plantas foram transferidas para solução de Hoagland; Arnon (1950) modificada a $\frac{1}{2}$ força iônica total, com troca de solução a cada três dias (Figura 3). Trinta dias após a germinação, todos os vasos receberam solução de Hoagland; Arnon (1950) modificada desprovida de nitrogênio por 72 horas, logo após foram aplicados os seguintes tratamentos: 0,2 mM de N-NO_3^- ; 2,0 mM de N-NO_3^- ; 0,2 mM de N-NH_4^+ e 2,0 mM de N-NH_4^+ (Figura 3), com quatro repetições sendo que cada repetição foi constituída por um vaso com 2 plantas (Figura 4).

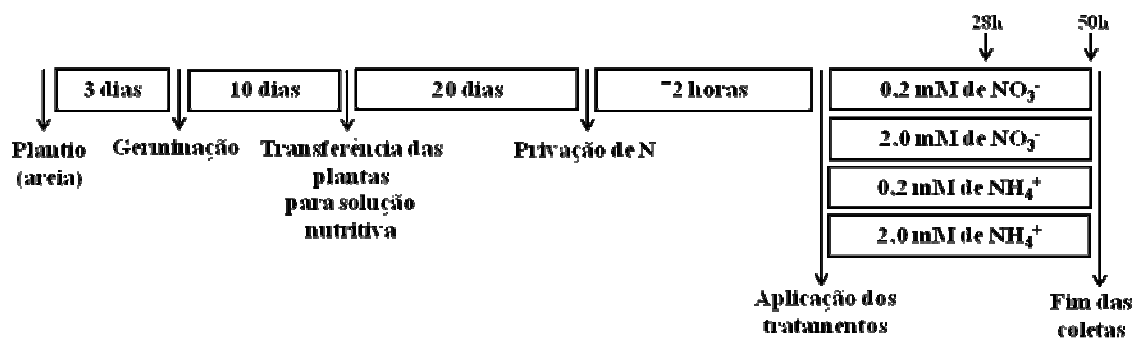


Figura 3. Esquema da condução do experimento de sistema hidropônico em câmara de crescimento com plantas de girassol submetidas a diferentes tratamentos com NO_3^- e NH_4^+ .

Durante um período de 5 horas, foram realizadas coletas da solução nutritiva a cada 30 minutos em todos os tratamentos. Posteriormente, as coletas foram feitas a cada hora, até 28h para as concentrações de 0,2 mM e até 48h para as concentrações de 2,0 mM. Nos tratamentos de 0,2 mM de NO_3^- e NH_4^+ foram realizadas 22 coletas e nos tratamentos de 2,0 mM de NO_3^- e NH_4^+ foram feitas 29 coletas. A cada coleta foi retirada uma alíquota de 1 mL da solução nutritiva para a análise dos teores de N-NH_4^+ (MITCHEL, 1972; FELKER, 1977) e N-NO_3^- (CATALDO et al., 1975; MIRANDA et al., 2001 com modificações de ARRUDA, 2014) e obter as curvas de depleção dos íons amônio e nitrato ao longo do período analisado.

As plantas coletadas foram separadas em limbo, pecíolo, caule e raiz e as massas

frescas determinadas. Também foi avaliado o volume radicular fresco através da medida do deslocamento de água destilada em uma proveta. Foram separadas subamostras (0,5 g) de material fresco de cada parte da planta (em duplicata) para armazenamento em 20 mL de etanol 80% e, posteriormente, obtenção do extrato alcoólico.

O procedimento para obtenção do extrato alcoólico foi feito a partir da maceração do material vegetal em etanol 80%, filtração do extrato obtido, partição com clorofórmio e elevação do volume da fração polar (menos densa) para 25 mL com etanol 80% (FERNANDES, 1984). Com o extrato obtido foram realizadas as análises de: N-amino livre (YEMM E COCKING, 1955), N-NH₄⁺ (FELKER, 1977), N-NO₃⁻ (CATALDO et al., 1975; MIRANDA et al., 2001 modificado por ARRUDA, 2014) e açúcares solúveis (YEMM E WILLIS, 1954). O material vegetal restante foi submetido à secagem e, posteriormente, pesagem visando determinar a massa seca de cada parte da planta. Em seguida, o material seco foi triturado e digerido, e com o extrato obtido, foram realizadas as análises de nitrogênio total (TEDESCO, 1982).

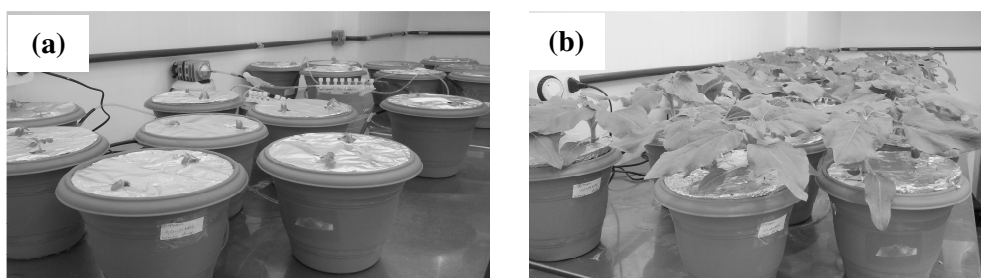


Figura 4. Plantas de girassol do genótipo Neon cultivadas em sistema hidropônico em câmara de crescimento da UFRRJ, em vasos com capacidade de 2,8 L com solução nutritiva a ½ força iônica, com NO₃⁻ (0,2 e 2,0 mM) e NH₄⁺ (0,2 e 2,0 mM). Em (a) aos 10 dias e em (b) aos 19 dias após a germinação. (Foto: arquivo pessoal)

3.1.1 Dosagem das frações solúveis no material vegetal fresco

a. Teores de N-amino livre

A determinação dos teores de N-amino livre nos tecidos foi realizada segundo o método de Yemm ; Cocking (1955). Foram adicionados em tubos de ensaio 0,5 mL de tampão citrato (0,2 M com pH 5,0), 1 mL de amostra obtida no extração alcoólica, 1,2 mL do reagente metil celossolve + KCN (0,01M) + Ninidrina 5%. A mistura foi agitada e os tubos de ensaio foram fechados com papel alumínio e colocados no banho-maria a 100°C durante 15 minutos. Logo após, os tubos foram resfriados em água corrente por cerca de 5 minutos, quando então foram acrescentados 3 mL de etanol 60%. A mistura foi homogeneizada e foram pipetados 250 µL da solução em poços de microplaca. As leituras foram realizadas a 570 nm na leitora de microplacas. A leucina foi utilizada para a confecção da curva padrão, nas concentrações de 0; 0,04; 0,08; 0,16; 0,20; 0,24; 0,32 mM.

b. Teores de N-NH₄⁺

Os teores de amônio foram determinados através do método colorimétrico descrito por Mitchel (1972), sendo a solução de hipoclorito de sódio substituída por dicloroisocianurato de sódio de acordo com Felker (1977). Utilizaram-se duas soluções para a realização da determinação. Solução A, composta por 5g de fenol e 0,025 g de nitroprussiato de sódio dissolvidos em 500 mL de água deionizada. Solução B, composta por 15 g de hidróxido de sódio e 0,31 g de dicloroisocianurato de sódio, dissolvidos em 500 mL de água deionizada. Retirou-se uma alíquota de 0,5 mL de amostra, obtida na extração alcoólica, foi acrescentada a 2,5 mL de cada solução, após homogeneização e descanso por 1h 30min, foram pipetados

250 μL da solução final em poços de microplaca. As amostras foram lidas através da leitora de microplacas a 630 nm. O cloreto de amônio (5mM) foi utilizado para a confecção da curva padrão, nas concentrações de 0,0; 10; 25; 50; 100; 200; 300; 400 nmoles de NH_4^+ . 0,5 mL^{-1} .

c. Teores de N-NO_3^-

Para a análise da solução nutritiva com baixa concentração de NO_3^- os teores de nitrato foram determinados de acordo com a metodologia de Miranda et al. (2001) a qual sofreu modificações por Arruda (2014). Em uma microplaca de 96 poços, foram pipetados 30 μL da amostra e 60 μL de uma solução resultante da mistura de VCL3 0,5% (m/v) em HCl 1M + sulfanilamida 0,4% (m/v) em HCl 1M + N-(1- naftil) etilenodiamnino dihidroclorido (0,02% (m/v) em H₂O ultrapura), na proporção de 2:1:1. Em seguida as amostras foram colocadas em estufa a 40°C por 50 minutos para, logo após foram adicionados 110 μL de H₂O ultrapura. Foram pipetados 250 μL da solução final em poços de microplaca. As amostras foram lidas através da leitora de microplacas a 540 nm. O nitrato de potássio foi usado para confecção da curva padrão, nas concentrações de: 0, 10, 20, 50, 100, 150, 200, 250 μM N- NO_3^- .

Para a análise da solução nutritiva com maior concentração de NO_3^- os teores de nitrato foram determinados de acordo com o método descrito por Cataldo et al. (1975). Em tubos de ensaio foram adicionados 0,1 mL da solução obtida do extrato alcoólico e 0,4 mL de solução de ácido salicílico 5% em H₂SO₄ concentrado. Depois de permanecer 20 minutos em repouso foram acrescentados vagarosamente 9,5 mL de NaOH 2N à mistura. Após resfriar, foram retiradas alíquotas de 250 μL da solução final e pipetados em poços de microplaca. As amostras foram lidas através da leitora de microplacas a 540 nm. O nitrato de potássio foi utilizado para a confecção da curva padrão, nas concentrações de 0,0; 0,5; 1,0; 2,5; 5; 10; 15; 20; 25 μg de NO_3^- 0,1 mL^{-1} .

d. Teores de Açúcares solúveis

A determinação dos teores de açúcares solúveis foi realizada de acordo com o método descrito por Yemm; Willis (1954). Em tubos de ensaio de vidro, imersos em banho de gelo, foram adicionados 5 mL de antrona (2% em H₂SO₄ 5:2), e após 5 minutos em repouso, acrescentou-se 1 mL da amostra obtida da extração alcoólica, deixando-se em repouso por 5 minutos a 0°C. Em seguida, colocaram-se as amostras em banho-maria a 100°C por 10 minutos para o desenvolvimento da cor verde característica. Após resfriamento em água corrente, as leituras realizadas no espectrofotômetro a 620 nm. A glicose foi utilizada para a confecção da curva padrão, nas seguintes concentrações: 0, 20, 40, 50, 80 e 100 μg mL^{-1} .

3.1.2 Dosagem de N-total no material vegetal seco

Os teores de N-total no material vegetal seco foram determinados através do método descrito por Tedesco (1998). Foram pesados 200mg de material moído em papel de cigarro e transferidos para tubos de ensaio de digestão. Adicionou-se 1 mL de H₂O₂ 30%, 1,5 mL de H₂SO₄ concentrado e 0,7 g de mistura catalisadora (100g Na₂SO₄ + 10g de CuSO₄.5H₂O + 1g de Selênio). Os tubos foram colocados no bloco digestor onde a temperatura foi aumentada gradativamente. Após o resfriar, utilizou-se água deionizada para dissolver e completar o volume até 50 mL em balão volumétrico. Logo após, o extrato foi filtrado e armazenado. A determinação de nitrogênio foi feita por destilação por arraste de vapor. Foram adicionados em tubos de ensaio 10 mL do extrato obtido na digestão sulfúrica, e este foi colocado no destilador. Acrescentou-se 10 mL de NaOH 50% pelo compartimento do apropriado do aparelho. Cerca de 35 mL do destilado foi recolhido em erlenmeyer contendo 5 mL de indicador de ácido bórico. Com uma bureta semi-automática a solução foi titulada com H₂SO₄ padronizado.

3.2 Avaliação da Produção de Óleo e Metabolismo de Girassol Sob Diferentes Níveis de Nitrogênio e Boro.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, no Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Foi utilizado o horizonte superficial de um Argissolo. Os tratamentos foram dispostos no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (2 genótipos x 2 manejos de N x 2 níveis de boro) com oito repetições.

As sementes de girassol dos híbridos Neon (SEMBRAS) e BRS321 (EMBRAPA) foram semeadas em argissolo arenoso coletado na EMBRAPA-Agrobiologia, em casa de vegetação. Nove dias após a germinação, as plântulas foram transferidas para vasos de 20,7 dm³ onde foram submetidas a diferentes níveis de N e B (Figura 5). As adubações foram realizadas por meio de solução nutritiva onde foi fornecida uréia como fonte de N e ácido bórico como fonte de B, de acordo com os seguintes tratamentos: I- 22,38 mg de B.vaso⁻¹ e 0,19 g.vaso⁻¹ de ureia no plantio e 0,36 g.vaso⁻¹ de ureia como adubação suplementar (equivalente à 10 kg de N.ha⁻¹ no plantio e 40 kg de N.ha⁻¹ adubação suplementar); 22,38 mg de B.vaso⁻¹ e 10 kg de N. ha⁻¹ no plantio; III- sem B e 50 kg de N.ha⁻¹ (10 kg de N.ha⁻¹ no plantio e 40 kg de N.ha⁻¹ adubação suplementar); IV – sem B e 10 kg de N.ha⁻¹ no plantio. Os tratamentos com 22,38 mg de B.vaso⁻¹ equivalem a 2,49 Kg de B.ha⁻¹.

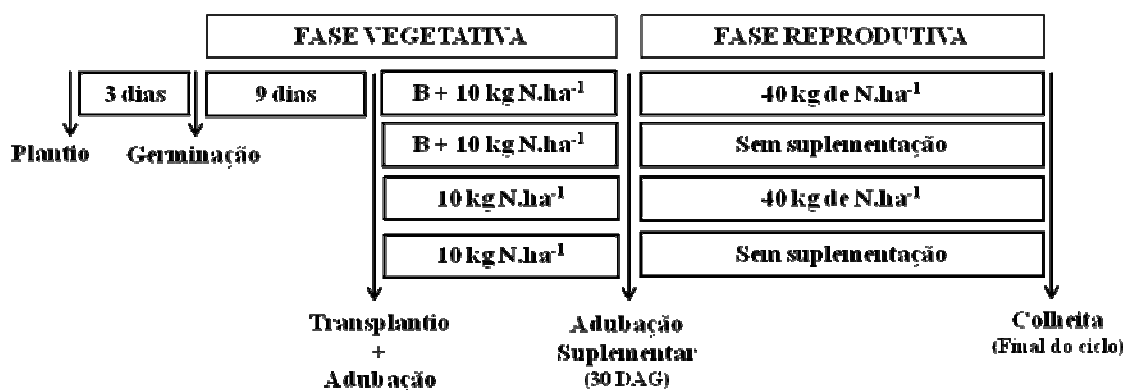


Figura 5. Modelo da condução do experimento em casa de vegetação com plantas de girassol dos híbridos Neon e BRS321, cultivados em diferentes níveis de N e B.

Diariamente foi realizada a rega das plantas. Trinta dias após a germinação foi realizada a adubação suplementar com 40 kg de N.ha⁻¹ (Figura 6). A adubação nitrogenada foi determinada com base em alguns estudos que relatam um decréscimo na produção de óleo quando as plantas são submetidas à alta adubação nitrogenada (ROCHA, 2013; RASSOL et al., 2013). Já a adubação borácica foi determinada com base no experimento realizado pelo Laboratório de Bioquímica de Plantas no Departamento de Química da UFRRJ, no qual foram utilizadas doses crescentes de B e verificaram que a dose de 0,1 mM (~ 22,38 mg . vaso⁻¹) foi a que apresentou um melhor rendimento de grãos para os genótipos utilizados (dados ainda não publicados).

As doses dos outros nutrientes para o desenvolvimento das plantas, assim como as doses de N e B foram determinados de acordo com a análise química do solo (Tabela 1), seguindo as recomendações para a cultura do girassol.

Tabela 1. Análise química de amostras compostas (0-20 cm profundidade) de argissolo, coletado na EMBRAPA-Agrobiologia, realizada antes do plantio dos genótipos de girassóis.

Concentração de elementos no solo							
	Al ⁺⁺⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	H ⁺ Al ⁺⁺⁺	K ⁺	Na ⁺⁺	P disponível
pH (H ₂ O)	(cmol _c .dm ⁻³)				(mg.dm ⁻³)		
6,17	0	4,2	3,1	1,3	20,7	10,6	8,8

A colheita foi realizada ao final do ciclo das plantas, na maturação completa dos grãos. As plantas foram coletadas e separadas em capítulo, limbo, pecíolo, caule, raiz e grãos. Além disso, foram retiradas amostras de solo de cada vaso após a coleta das plantas. O material vegetal foi seco em estufa e, posteriormente, pesado visando a determinação da massa seca de cada parte da planta. Em seguida, o material seco foi triturado e digerido (TEDESCO, 1982). Com o extrato obtido, a partir da digestão sulfúrica, foram realizadas as análises de N total (TEDESCO, 1982). Com parte do material seco também foram feitas as análises de B em cada parte da planta (MALAVOLTA et al., 1997). A partir das amostras de solo foram determinados os teores de N-total (TEDESCO, 1982) e B (ABREU et al., 1994) no solo. Os grãos coletados foram contados e pesados, e através de uma análise sensorial foram separados os grãos cheios e chochos. Posteriormente foi realizada a extração do óleo (YANIV et al., 1998; HAGEMANN et al., 1962), a análise do teor N e B nos grãos cheios.



Figura 6. Plantas de girassol cultivadas em casa de vegetação no Departamento de Solos da UFRRJ, submetidas aos tratamentos: I- com B e 10 kg de N.ha⁻¹ no plantio + suplementação de 40 kg de N.ha⁻¹; II- com B e 10 kg de N.ha⁻¹ no plantio; III- sem B e 10 kg N.ha⁻¹ no plantio + suplementação de 40 kg N.ha⁻¹; IV – sem B e 10 kg de N.ha⁻¹ no plantio.

(Foto: arquivo pessoal)

3.2.1 Extração do óleo de girassol

Antes de realizar a extração do óleo, as sementes de girassol foram secas em estufa com circulação forçada de ar e, em seguida, foram trituradas em moinho analítico (IKA[®] A11 basic), pesou-se 0,5 g para amostras com grande quantidade de sementes e 0,25 g para amostras com poucas sementes. Para iniciar a extração colocou-se o material triturado em um cartucho de filtro de papel dentro de um extrator de Soxhlet, adicionando-se cerca de 200 mL de solvente hexano. A extração durou cerca de 4h, para a realização de cerca de 72 ciclos para a extração completa do óleo. Em seguida, o material recolhido em um balão volumétrico foi colocado em um evaporador rotativo (IKA[®] RV 10 control) por 20 minutos com rotação de

100 rpm em banho-maria à 60°C. O balão, que teve seu peso aferido antes da extração, foi novamente pesado, possibilitando assim a realização do cálculo da quantidade de óleo produzida.

3.2.2 Determinação de B no material vegetal

Para a realização das análises de B no material vegetal foram pesados cerca de 500mg ou 200 mg de amostra que foi transferida para em cadinhos de cerâmica, sendo posteriormente incineradas em mufla a 550°C até a obtenção de cinza branca (cerca de 3 horas). Após a queima do material a cinza foi dissolvida com HCl 0,1N e o volume foi elevado para 10 mL. A partir do extrato obtido foi realizada análise colorimétrica, onde foram transferidos para tubos de ensaio 1 mL de amostra, 1 mL de solução tampão e 1 mL de solução de azometina H 0,45%. Depois de meia hora foram pipetados 250 µL da solução final em poços de microplaca. As leituras foram realizadas na leitora de microplacas a 420 nm. O ácido bórico foi utilizado para a confecção da curva padrão, nas concentrações de 0; 0,25; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 e 3,5 ppm de B.

3.2.3 Determinação de B no solo

A determinação do B disponível no solo foi realizada segundo o método descrito por ABREU et al., (1994). Foram colocados 10 cm³ de amostra de solo em saquinhos de prolipropileno (10 x 12 cm), em seguida foram adicionados 20 mL de solução extratora de cloreto de bário e 0,5 cm³ de carvão ativo. Os saquinhos foram selados, furados e pendurados em um suporte de maneira uniforme formando um círculo, em seguida foram colocados dentro de um forno micro-ondas durante 4 minutos em potência máxima. Após o resfriamento das amostras elas foram filtradas e armazenadas.

Para a determinação do boro foram transferidas alíquotas de 4 mL do extrato para tubos de ensaio, adicionou-se 1 mL de solução tampão e as soluções foram agitadas. Logo após, foram adicionados 1mL de azometina-H e foram vigorosamente agitadas. Os tubos de ensaio foram cobertos por um pano preto e ficaram em repouso por 30 minutos. Foram pipetados 250 µL da solução final em poços de microplaca. As leituras foram realizadas na leitora de microplacas a 420 nm. O ácido bórico foi utilizado para a confecção da curva padrão nas concentrações de 0; 0,8; 0,16;0,24; 0,32; 0,40 e 0,48 ppm de B.

3.2.4 Dosagem de N-total no material vegetal seco e no solo

Foi realizado conforme descrito no item 3.1.2

3.3 Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando-se o software para análises estatísticas da Universidade Federal de Lavras (UFLA), SISVAR. Foram realizados os testes de normalidade (Teste de Lilliefors) e de homogeneidade das variâncias (Cochran e Bartlett) e o nível de significância foi analisado através do teste F ($p < 0,05$). Quando as variáveis diferiram pelo teste F, as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey no nível de 5% de significância de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento de Cinética de Absorção de N-NO₃⁻ e N-NH₄⁺

4.1.1 pH e curvas de depleção de NO₃⁻ ou NH₄⁺ da solução nutritiva de cultivo de plantas de girassol do híbrido Neon

O pH da solução nutritiva foi monitorado desde o início da aplicação dos tratamentos. Com base na análise dos efeitos das concentrações de N sobre as variações de pH, foi observado diminuição do pH ao longo do tempo no tratamento com baixa concentração de N-NO₃⁻ (Figura 7A), ao contrário do que aconteceu no tratamento com 2,0 mM de NO₃⁻ ou NH₄⁺. Nestes últimos, houve a elevação do pH da solução nutritiva cerca de 26 horas após a aplicação do tratamento, seguida de uma queda gradual (Figura 7B).

É provável que a elevação do pH da solução tenha ocorrido devido ao consumo de H⁺ da solução através do sistema de transporte tipo simporte de NO₃⁻/2H⁺. Como em baixa dose a concentração de NO₃⁻ é pequena não foi possível perceber esse aumento momentâneo do pH.

A nutrição amoniacal promoveu um aumento gradual da acidificação da solução nutritiva em ambos os tratamentos (Figura 7A e B). O aumento da acidez da solução também foi observado por SILVA et al., (2010), que em sistema hidropônico e verificando que a adubação amoniacal reduz o pH da solução e a produção de biomassa seca das plantas de girassol. Ainda, na absorção do íon NH₄⁺, através da ação da H⁺-ATPases, ocorre o bombeamento de H⁺ para o exterior das células, ocasionando uma redução no pH (COMETTI et al., 2006).

Quando as plantas foram submetidas ao tratamento com 2,0 mM de N-NO₃⁻, o consumo quase total do nitrogênio da solução nutritiva foi registrado cerca de 50 horas após o início do tratamento. Este comportamento pode ser observado no gráfico de depleção de N-NO₃⁻ no tempo (Figura 7C).

Os transportadores de alta afinidade em geral não são induzidos de forma rápida, e por isso, somente após algumas horas após o início do tratamento com 0,2 mM N-NO₃⁻, esse íon apresentou uma queda acentuada na solução nutritiva. O destaque do gráfico (Figura 7C, inserto) apresenta uma curva onde é possível observar a estabilidade na queda do íon após as 26 horas de experimento.

Quando as plantas foram submetidas a alta concentração de NH₄⁺ (2,0 mM), foi observado alta absorção de NH₄⁺ no período noturno, e ainda, que cerca de 47hs após o início do tratamento há uma estabilidade na queda da concentração do íon NH₄⁺ na solução nutritiva (Figura 7D).

Já no tratamento com baixa disponibilidade de NH₄⁺ (0,2 mM), foi necessário cerca de 10 horas para esgotar o amônio da solução nutritiva. Nota-se que a depleção deste íon (Figura 7D, inserto) evidencia uma curva com queda brusca em sua concentração na solução nutritiva, reflexo da rápida absorção deste íon pelas plantas de girassol. Como o tratamento apresenta baixa concentração deste íon, a rápida absorção já é esperada.

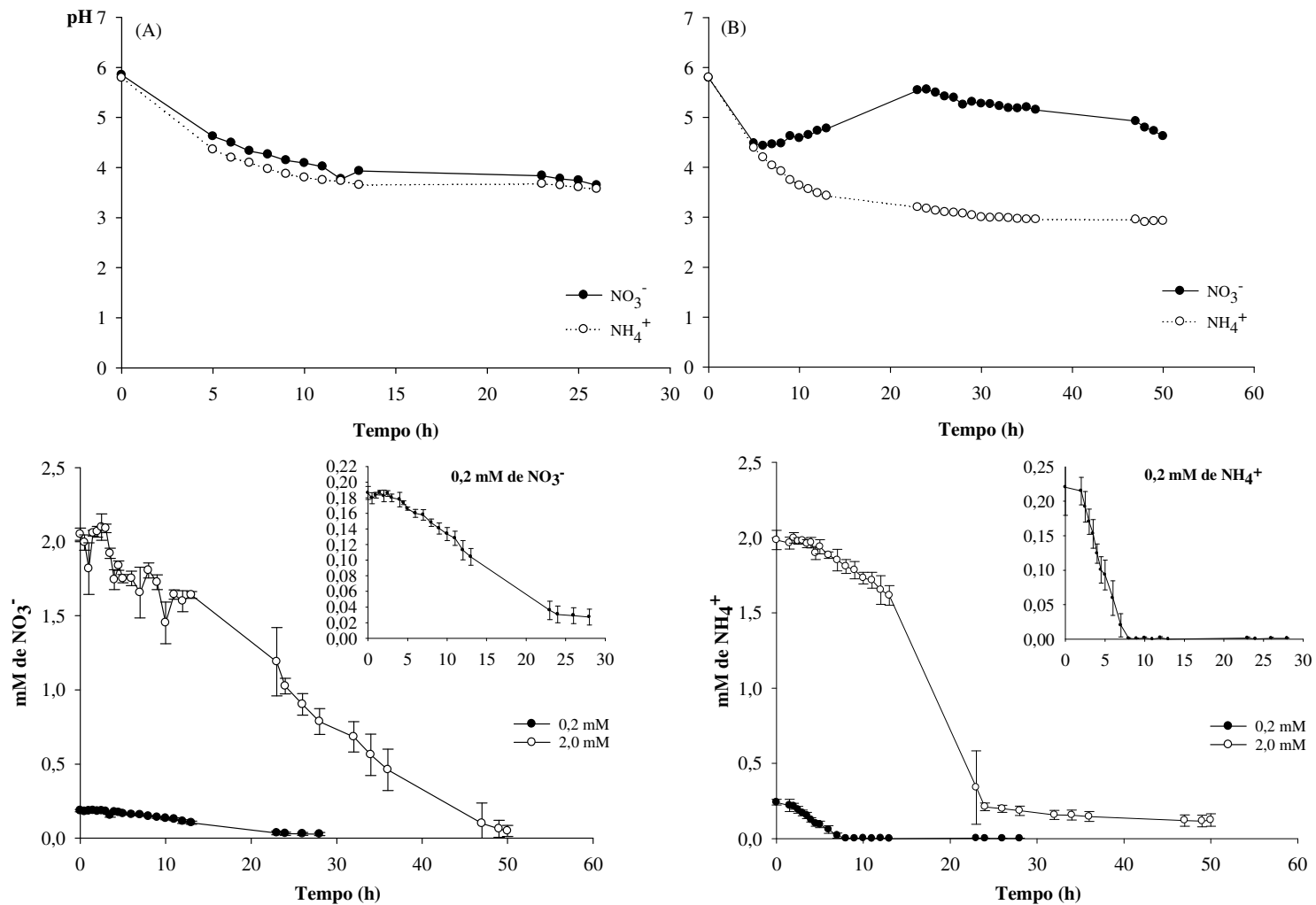


Figura 7 Efeito das concentrações de 0,2 mM (A) e 2,0 mM (B) de NO_3^- e NH_4^+ sobre a variação temporal do pH e as curvas de depleção de plantas do híbrido Neon em solução nutritiva contendo 0,2 e 2,0 mM de NO_3^- (C) ou NH_4^+ (D), após 72h de privação de N.

4.1.3 Parâmetros cinéticos de absorção de N

A Tabela 2 traz os valores ou calculados dos parâmetros cinéticos de absorção para os íons NO_3^- e NH_4^+ . Como resultado, os parâmetros de absorção de N- NH_4^+ variaram conforme sua concentração na solução, sendo que os maiores valores foram encontrados nos tratamentos com alta dose deste íon. De acordo com a literatura, é esperado que o sistema HATS apresente cinética de saturação com valores de K_m inferiores a $100 \mu\text{moles L}^{-1}$ (CRAWFORD; GLASS, 1998; FORDE, 2000). Com isso, o valor de K_m igual a 48,7 é considerado aceitável.

Já conforme apresentado na Tabela 2, os valores de K_m variam de acordo com as doses e as fontes de N, exceto nos tratamentos com baixa concentração de N, onde não houve diferenças significativas entre os valores de K_m em função das fontes de N. Quando se comparou os valores de $V_{m\acute{a}x}$ das plantas cultivadas com baixa concentração N, observou-se menor valor de $V_{m\acute{a}x}$ quando a fonte fornecida foi o NO_3^- indicando uma menor eficiência na absorção desse nutriente.

Tabela 2. Parâmetros cinéticos de plantas do híbrido Neon de girassol cultivadas em diferentes níveis (0,2 e 2,0 mM) e fontes (NO_3^- e NH_4^+) de N.

Tratamentos	Parâmetros cinéticos	
0,2 mM	K_m ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	$V_{m\acute{a}x}$ ($\mu\text{mol g.h}^{-1}$)
NO_3^-	48,90a	6,40b
NH_4^+	48,47a	106,06a
2,0 mM	K_m ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	$V_{m\acute{a}x}$ ($\mu\text{mol g.h}^{-1}$)
NO_3^-	228,74b	54,75b
NH_4^+	922,71a	212,71a

Médias seguidas das mesmas letras na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Os parâmetros cinéticos estão intimamente relacionados com o desenvolvimento do sistema radicular (BAPTISTA et al., 2000). Esta afirmação elucida o comportamento observado das raízes no cultivo com altas doses de N. Neste contexto pode-se observar que, quando a fonte utilizada foi o NO_3^- , as plantas apresentaram menor valor de K_m (Tabela 3) associado com maior volume radicular quando comparadas com as plantas cultivadas com alta dose de NH_4^+ . Isto pode ser um indicativo de que, nas condições deste experimento, as plantas foram mais eficientes na absorção de NO_3^- em ambientes ricos em N. Segundo Souza; Fernandes (2006), o menor valor de K_m para a absorção de alta dose de N indica uma maior afinidade dos transportadores LATS pelo NO_3^- .

De modo geral, as plantas cultivadas com NH_4^+ apresentaram maiores valores de $V_{m\acute{a}x}$ quando comparadas com as plantas cultivadas com NO_3^- . Isto se deve ao fato do NH_4^+ ser prontamente assimilado no citosol, ou ainda, pode sinalizar que há um maior número de transportadores de NH_4^+ nas raízes (Tabela 2). Essa maior velocidade de absorção é corroborada na curva que mostra a rápida depleção do íon no tempo (Figura 7 D).

4.1.4 Massa fresca e volume radicular de plantas de girassol do híbrido Neon cultivadas com 0,2 e 2 mM de NO_3^- ou NH_4^+

Na análise de volume radicular das amostras, as plantas cultivadas com 0,2 mM de NO_3^- ou NH_4^+ apresentaram valores semelhantes. Entretanto, quando foram cultivadas com alta dose de N, maior volume radicular foi observado nas plantas supridas com N-NO_3^- . Por outro lado, apesar da alta velocidade de absorção, as plantas cultivadas com NH_4^+ apresentaram menor volume de raízes (Tabela 3).

Algumas plantas são sensíveis ao NH_4^+ em concentrações relativamente pequenas, como 2,0 mM. Devido ao fato de a assimilação de NH_4^+ ocorrer basicamente nas raízes e requerer grandes quantidades de carboidratos, plantas sob nutrição amoniacal mostram redução na taxa de crescimento das raízes.

Tabela 3. Volume do sistema radicular das plantas do híbrido Neon de girassol submetidas ao ressuscitamento de N-NO_3^- e N-NH_4^+ após 72 horas de privação de N.

Volume Radicular (cm^3)		
Dose	NO_3^-	NH_4^+
0,2 mM	64,50 ^a	62,59a
2,0 mM	70,75 ^a	40,82b
CV(%)	14,52	

Médias seguidas das mesmas letras na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Analisando os tratamentos com alta dose de N, pode-se observar diferenças significativas entre as fontes de N. As plantas cultivadas com alta dose de NH_4^+ apresentaram menor massa fresca de raiz e de parte aérea quando comparadas as plantas cultivadas com NO_3^- (Tabela 4). Esta característica pode ser entendida como um efeito da própria absorção do íon. Para ocorrer a absorção do NH_4^+ , a planta pode utilizar carboidratos não solúveis da própria raiz, causando assim a redução na biomassa do sistema radicular (BORGES et al., 2009). Cometti (2006), trabalhando com plantas de alface em sistema hidropônico, também encontrou menor biomassa de raízes. A razão raiz/parte aérea reflete a capacidade que a planta possui para desenvolver o sistema radicular em relação à parte aérea, neste caso, as plantas cultivadas com alta dose de amônio apresentaram menor relação raiz/parte aérea, esses dados são corroborados pelos encontrados em Rocha (2013).

Quando se compara os tratamentos com alta dose de N, observa-se que as plantas cultivadas com NH_4^+ apresentam maior valor de $V_{máx}$ (Tabela 2), a também menor razão raiz/parte aérea (Tabela 4). Portanto, os resultados sugerem mais indícios de sítios de absorção para esse íon.

A aplicação da maior dose de N-NO_3^- (2,0 mM) resultou aumento significativo na produção de massa fresca das folhas, quando comparado a menor dose (Tabela 4). Uma possível explicação para esta diferença está relacionada com um uso diferenciado de carbono pelas plantas. O baixo fornecimento de N-NO_3^- favorece também a baixa utilização de esqueletos de C, afetando diretamente a produção de biomassa. Britto et al., (2013), trabalhando com crambe em sistema hidropônico, também observaram esse aumento da biomassa das folhas, quando as plantas foram cultivadas com alta dose de N-NO_3^- .

Nos tratamentos com baixa dose, em ambas as fontes, não há diferença significativa entre a biomassa nos diferentes compartimentos da planta (Tabela 4). Esses resultados nos mostram que não existe uma preferência das plantas pela fonte em baixa dose de N.

Tabela 4. Massa fresca (g planta⁻¹) de plantas de girassol do híbrido Neon submetidas ao ressuprimento de N-NO₃⁻ e N-NH₄⁺ após 72 horas de privação de N.

Ressuprimento de 0,2 mM						
Tratamento	Limbo	Pecíolo	Caule	Raiz	Parte Aérea	Raiz / P.A.
NO ₃ ⁻	48,41 a	20,89 a	29,54 a	37,80 a	91,47 a	0,42 a
NH ₄ ⁺	42,97 a	20,10 a	26,99 a	35,08 a	90,05 a	0,37 a
Ressuprimento de 2,0 mM						
NO ₃ ⁻	54,29 a	28,02 a	36,59 a	43,63 a	118,89 a	0,37 a
NH ₄ ⁺	44,00 b	19,14 b	27,46 a	25,02 b	90,60 b	0,28 b
CV(%)	8,52	14,26	30,23	17,05	12,41	15,23

Médias seguidas das mesmas letras na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

4.1.5 Análise do material vegetal seco

Observou-se que as plantas acumularam nitrogênio preferencialmente nas folhas, para posterior remobilização para a inflorescência (Tabela 5). O tratamento de 2,0 mM de NO₃⁻ foi o que apresentou os maiores teores de N nas quatro partes da planta. Ou seja, podemos dizer que nesse tratamento a planta apresentou um maior acúmulo de N-total. Isto é interpretado com sendo consequência do maior rendimento de biomassa observado nos dados de volume radicular (Tabela 3) e massa fresca (Tabela 4), pois as plantas apresentaram melhor desenvolvimento quando submetidas a esse tratamento.

Tabela 5. N-total e conteúdo de N de folha, pecíolo, caule e raiz do híbrido Neon de girassol.

Concentração de N (mmoles . gms⁻¹)				
Tratamento	Limbo	Pecíolo	Caule	Raiz
0,2 mM de NO ₃ ⁻	2,346Aa	0,542Ca	0,504Ca	1,662Ba
0,2 mM de NH ₄ ⁺	2,294Aa	0,592Ca	0,668Ca	1,564Ba
2,0 mM de NO ₃ ⁻	2,582Aa	0,669Ca	0,815Ca	1,949Ba
2,0 mM de NH ₄ ⁺	1,178Bb	0,166Cb	0,566Ca	2,098Aa
Conteúdo de N (mg. planta⁻¹)				
0,2 mM de NO ₃ ⁻	176,910Aa	10,731Ca	25,921BCa	57,640 Ba
0,2 mM de NH ₄ ⁺	157,496Aa	10,541Ba	25,674Ba	44,316Ba
2,0 mM de NO ₃ ⁻	228,207Aa	15,612Ca	41,072BCa	70,151Ba
2,0 mM de NH ₄ ⁺	62,695Ab	2,618Ba	20,872Aba	39,349Aba

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

4.1.6 Análises do material vegetal fresco

A análise dos tecidos das plantas submetidas ao tratamento de menor dose de N-NO₃⁻ mostrou que, em ambas as fontes de N, foram encontrados os maiores teores de N-NO₃⁻ no pecíolo. Isto sugere que este pode ser um possível compartimento preferencial para o armazenamento de N-NO₃⁻ (Figura 8a). Rocha (2013), trabalhando com plantas de girassol em sistema hidropônico, indicou o caule como suposto local de armazenamento de nitrato na

planta. Entretanto, este experimento difere no tipo de análise, pois ele não analisou as quantidades do nutriente nos pecíolos. Ao realizar a análise do conteúdo de N-NO₃⁻ por vaso (Figura 9a), eliminou-se um possível efeito de diluição. Assim, obteve-se o valor real da quantidade do nutriente na planta toda, e com isso, verificou-se que o pecíolo foi realmente o compartimento de reserva de N na planta. De acordo com os resultados encontrados é possível que os pecíolos apresentem baixa atividade da nitrato redutase (NR) e por esse motivo acumulem o nutriente. No estudo realizado por Santos et al., (2009) com plantas de arroz em sistema hidropônico eles verificaram que a bainha é o compartimento de acúmulo de NO₃⁻ em arroz e também o que apresenta menor atividade da NR.

Os experimentos de ressuprimento com dose mais elevada de NO₃⁻ mostraram que os maiores teores de N-NO₃⁻ estão nas raízes das plantas. Já nos experimentos de maior dose de NH₄⁺, os maiores teores são encontrados no pecíolo (Figura 8b). Nas plantas cultivadas com NH₄⁺, independentemente da dose, foram encontrados teores de NO₃⁻. Diante disso, a interpretação feita é a de que o fato das plantas terem sido cultivadas com NO₃⁻ e NH₄⁺ antes da etapa de privação de N, pode explicar este resultado. Isto porque o tempo que as plantas foram privadas de N pode não ter sido suficiente para que o NO₃⁻, estocado pela planta para posterior remobilização, se exaurisse. O fato de se encontrar maiores quantidades de NO₃⁻ nos pecíolos das plantas cultivadas com NH₄⁺ também é um indicativo que este compartimento da foi utilizado para o acúmulo do nutriente (Figura 8a e b).

Nos tratamentos de 0,2 mM de NO₃⁻ e NH₄⁺, foram encontrados teores de N-NH₄⁺ apenas nas raízes das plantas cultivadas com N-NO₃ (Figura 8c). No entanto, nos experimentos com baixa dose de N-NH₄⁺, não foram encontrados teores de N-NH₄⁺, o que indica que o nutriente absorvido pelas raízes foi prontamente assimilado.

As plantas submetidas ao alto ressuprimento de NO₃⁻ ou NH₄⁺, assim como o tratamento de baixa dose, apresentaram maiores teores de N-NH₄⁺ nas raízes (Figura 8d). A assimilação do N-NH₄⁺ ocorre basicamente nas raízes. Devido a sua toxicidade à planta, o nutriente tende a ser prontamente assimilado.

O fato dos teores de N-NH₄⁺ serem detectados somente nas raízes (Figura 8a e b) também pode ser explicado pela sua maior capacidade de assimilação do íon na parte aérea, em função da maior disponibilidade de esqueletos de carbono (Figura 8g e h) proveniente da fotossíntese. Nas raízes, sua assimilação depende da chegada de esqueletos de carbono através do transporte de açúcares via floema, o que torna a assimilação menos eficaz.

Quando as plantas foram submetidas a tratamentos com alta dose se observou que com o aumento das doses de NO₃⁻ ou NH₄⁺ também aumentam os teores de N-amino nos tecidos das plantas, com exceção do pecíolo que apresentou o oposto ao encontrado nos outros compartimentos (Figura 8f). O fato dos pecíolos apresentarem menores teores de N-amino pode ser um indicativo da menor assimilação do nutriente nesses compartimentos (Figura 8f, Figura 9e e f), o que pode estar relacionado com altos teores de NO₃⁻ neste compartimento.

O tratamento com alta dose de NH₄⁺ comparado ao de alta dose de NO₃⁻ apresenta maior teor de N-amino nas raízes (Figura 8f). O NH₄⁺ precisa ser rapidamente assimilado, em consequência, tem-se aumento no teor de N-amino principalmente nas raízes. Sperandio et al., (2011) também observaram essa maior quantidade de N-amino nas raízes das plantas cultivadas com NH₄⁺ quando comparadas com plantas cultivadas com NO₃⁻.

O caule foi o compartimento que apresentou os maiores teores de açúcares solúveis, seguido do pecíolo em todos os tratamentos (Figura 8g e h). Tais resultados indicam que o híbrido Neon pode ter um maior potencial de armazenamento de N nesses compartimentos.

Na análise do conteúdo de açúcares solúveis nas plantas o caule se destaca dos demais compartimentos, apresentando os maiores valores, sendo esta a região de acúmulo de açúcares (Figura 9g e h). O mesmo foi encontrado por Rocha (2013), em que o caule foi o local de acúmulo de açúcares na variedade BRS324 cultivada em sistema hidropônico.

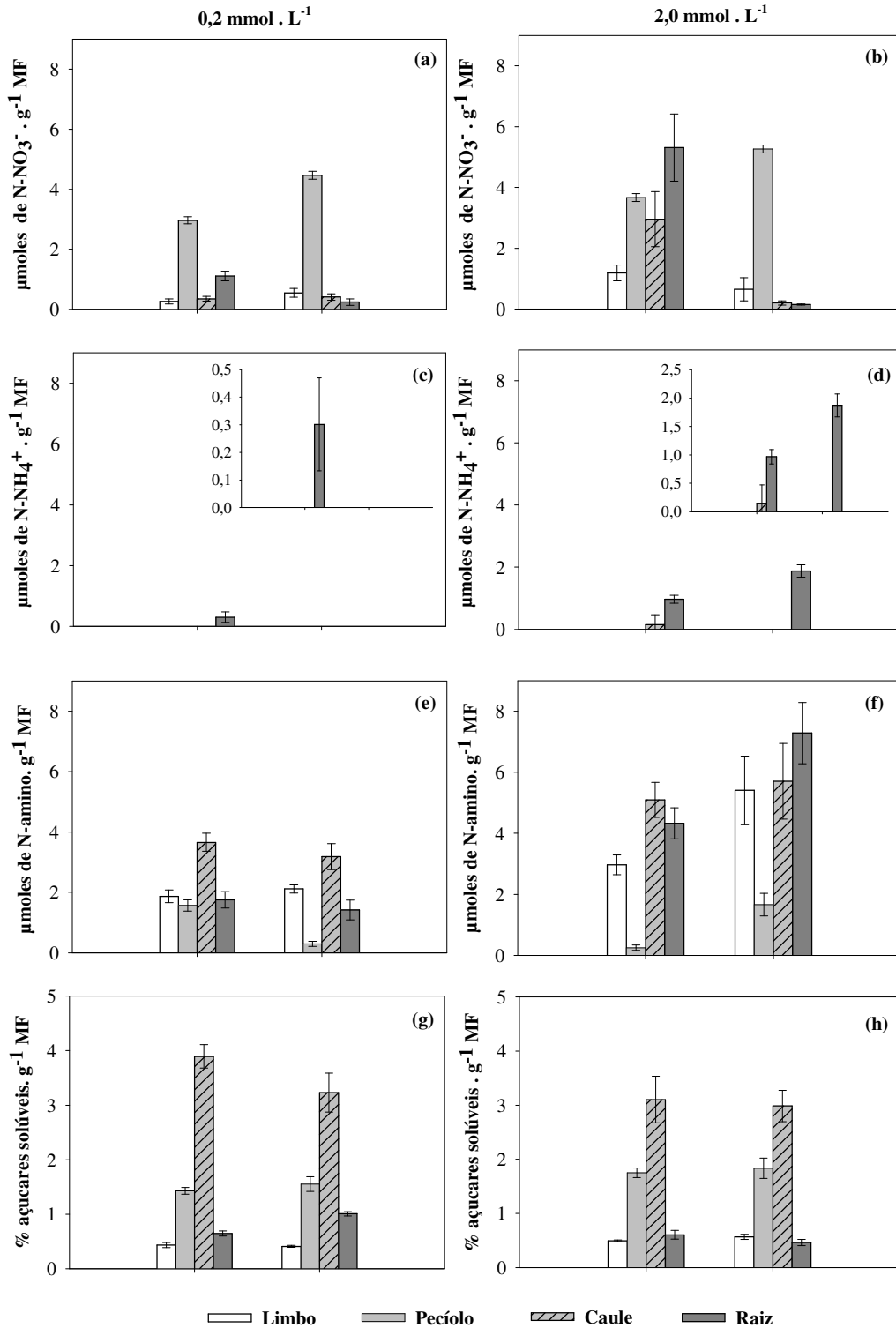


Figura 8. Teores de N- NO₃⁻ (a, b), N-NH₄⁺ (c, d), N-Amino livre (e, f) e Açúcares solúveis (g, h) em plantas de girassol do híbrido Neon submetidas ao ressuprimento de 0,2 e 2,0 mM de NO₃⁻ ou NH₄⁺, após 72h de privação de N. As barras representam o erro padrão médio das repetições.

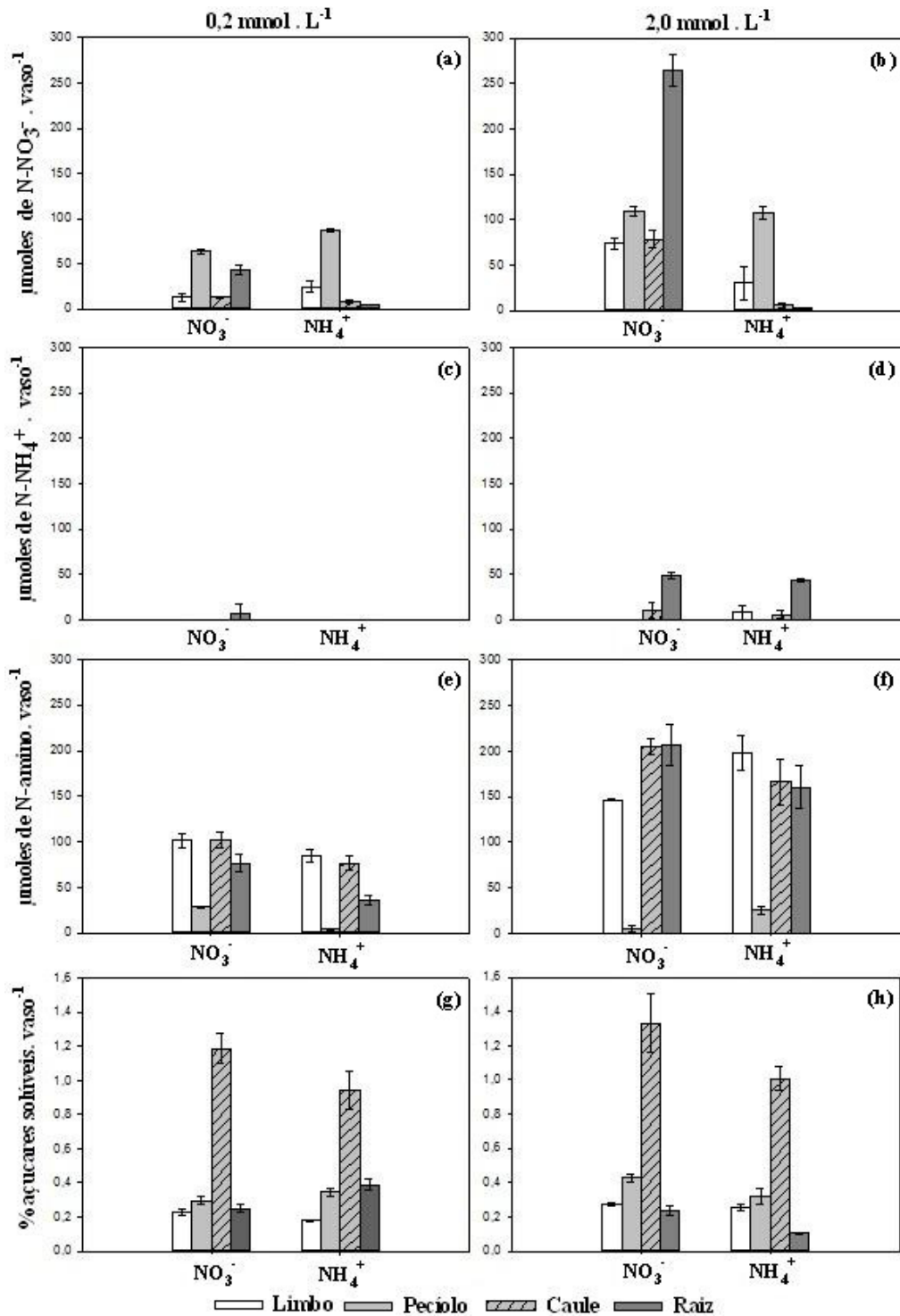


Figura 9. Conteúdo (g. vaso⁻¹) de N- NO₃⁻ (a, b), N-NH₄⁺ (c, d), N-Amino livre (e, f) e Açúcares solúveis (g, h) em plantas de girassol do híbrido Neon submetidas ao ressurgimento de 0,2 e 2,0 mM de NO₃⁻ ou NH₄⁺, após 72h de privação de N. As barras representam o erro padrão médio das repetições.

4.2 Avaliação da Produção de Óleo e Metabolismo de Girassol sob Diferentes Níveis de Nitrogênio e Boro

4.2.1 Massa seca e produção de grãos e óleo

Os valores de massa seca para as diferentes partes das plantas são apresentados na Tabela 6. Através destes valores, foi possível observar que os genótipos responderam de maneira diferenciada aos tratamentos. Para o genótipo Neon, os tratamentos II e III apresentaram maior massa de capítulo. No entanto, no experimento com BRS321 não foram encontradas diferenças significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

Ao analisarmos a massa de grãos, pode-se observar que o tratamento com a menor dose de N e sem boro acarretou menor produção quando comparado aos demais tratamentos para o genótipo BRS321. Já para o genótipo Neon não foi detectadas diferenças para a massa seca dos grãos entre os tratamentos (Tabela 6).

Tabela 6. Massa seca (g.planta⁻¹) de plantas de girassol dos híbridos Neon e BRS321 cultivados em casa de vegetação.

Trat	Grão	Capítulo	Limbo	Pecíolo	Caule
Neon					
B + 50 N	29,30 a	15,67 ab	12,36 b	2,41 c	30,19 a
B + 10 N	52,20 a	17,27 a	17,66 a	3,31 ab	28,01 a
50 N	49,62 a	16,44 a	16,97 a	3,36 a	30,01 a
10 N	39,34 a	13,89 b	14,90 ab	2,84 bc	28,96 a
CV(%)	30,36	7,9	11,49	9,55	8,34
BRS321					
B + 50 N	25,46 a	16,03 a	12,36 b	1,52 b	18,76 a
B + 10 N	20,80 a	12,29 a	17,66 a	1,78 ab	19,82 a
50 N	23,38 a	16,31 a	16,97 a	1,89 a	19,79 a
10 N	10,38 b	15,88 a	14,90 ab	1,46 b	15,61 b
CV(%)	16,23	16,01	11,49	11,58	8,74

Médias seguidas das mesmas letras na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de significância

Como pode ser observado na Tabela 6, para ambos os genótipos, os tratamentos II e III produziram os maiores valores de massa seca dos limbos foliares. Nos pecíolos, os valores também são altos nestes tratamentos. Já no caule, não houve diferença significativa entre os tratamentos em ambos os genótipos, exceto para o tratamento IV no genótipo BRS321.

Para o genótipo Neon, o tratamento com 50 kg de N.ha⁻¹ (III) rendeu maior teor de óleo nos grãos. Tal tratamento se destacou por apresentar alta quantidade de grãos juntamente com a maior produção de óleo (Tabela 7). No tratamento em que se aplicou 10 kg de N juntamente com a adubação com B obteve-se produção de grãos cheios semelhante a encontrada no tratamento de 50 kg de N (Tabela 7). Esse resultado sugere que o B estaria beneficiando a produção de grãos e consequentemente gerando economia no uso de fertilizantes nitrogenados.

Diferentemente do que aconteceu com o Neon, no genótipo BRS321 a adubação borácica foi determinante para a produção de grãos tanto com a adubação de 10 kg de N. ha⁻¹ quanto com a adubação de 50 kg de N. ha⁻¹. No tratamento com boro e 50 kg de N.ha⁻¹ (I), o

genótipo produziu maior teor de óleo, ou seja, a adubação com boro também pode ter influenciado na produção de óleo desse genótipo (Tabela 7).

As plantas do genótipo BRS321 apresentaram maiores quantidades de grãos chochos quando restrita a adubação borácica (Tabela 7), o que pode ser explicado devido a fase reprodutiva ser mais exigente quanto a este nutriente, podendo as plantas apresentar capítulos deformados com grandes quantidades de grãos chochos (LIMA et al., 2013). Tahir et al. (2013) verificaram que com o aumento da dose de B, e aplicando doses diferenciadas de boro na forma de ácido bórico em plantas do híbrido Hysun-33 de girassol, houve também aumento na produção de grãos e nos teores de óleo.

Na comparação dos genótipos, o BRS321 em geral foi o que apresentou maiores teores de óleo, principalmente no tratamento I (68,75%), com exceção do tratamento III (Tabela 7). De acordo com a EMBRAPA (2011) os teores médios de óleo atingidos por este genótipo estão entre 40% e 44%. No entanto, os valores encontrados nesse experimento foram significativamente superiores do que o esperado. O genótipo Neon também apresentou valores relevantes no teor de óleo, apesar de menores que o BRS321, principalmente no tratamento de 50 kg de N.ha⁻¹ (61,54%), cuja produção de grãos cheios também é elevada. Rocha (2013) constatou que a adubação de 50 kg de N.ha⁻¹ apresentou melhores resultados em relação ao rendimento de óleo independente do genótipo, pois o rendimento de óleo foi reduzido quando foram aplicadas doses de N superiores.

Tabela 7. Número de grãos cheios e chochos (nº.planta⁻¹) e percentagem de óleo dos genótipos Neon e BRS321 cultivados em casa de vegetação com diferentes tratamentos com N e B.

Tratamentos	Grãos cheios		Grãos chochos		% óleo	
	Neon	BRS321	Neon	BRS321	Neon	BRS321
(I) B + 50 N	536 Ab	235 Ba	310 Ab	271 Ab	50,65 Bb	68,75 Aa
(II) B + 10 N	760 Aa	264 Ba	443 Aa	311 Bb	47,88 Ab	51,92 Ab
(III) 50 N	858 Aa	54 Bb	437 Aa	471 Aa	61,54 Aa	53,91 Bb
(IV) 10 N	608 Ab	81 Bb	372 Aab	448 Aa	42,02Bb	49,58 Ab
CV (%)	11,29	41,45	17,51	15,18	10,09	9,11

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Foi observada relação positiva significativa entre o número de grãos cheios produzido por planta e a percentagem de óleo em ambos os genótipos estudados (Figura 10 - A e B). Interessantemente, o genótipo BRS321 produziu quantidade de grãos cheios inferior ao do genótipo Neon, e mesmo assim obteve percentagem de óleo semelhante ou maior quando se compara os genótipos (Figura 10). Esse fato sugere um possível efeito de diluição nos grãos do genótipo Neon.

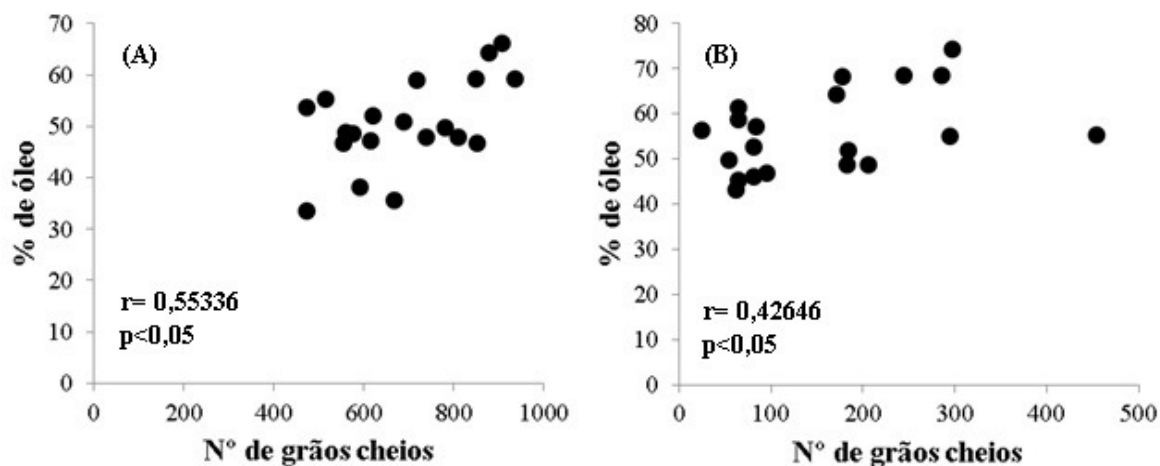


Figura 10 – Correlação entre o número de grãos cheios produzido (nº. planta⁻¹) e a produção de óleo dos genótipos Neon (A) e BRS321 (B).

A produção de grãos cheios do genótipo BRS321 foi consideravelmente maior no tratamento com suplementação nitrogenada e aplicação de B e, conseqüentemente, a produção de óleo neste tratamento também (Tabela 8). Rasool et al. (2013), trabalhando com diferentes doses de N em plantas de girassol no campo, observaram que, com o aumento da dose de N, a produtividade de grãos e o rendimento de óleo aumentou em kg.ha⁻¹, e que com a alta dose de N, houve uma redução no teor de óleo dos grãos. A produção de grãos cheios por capítulo para o genótipo Neon foi maior no tratamento com menor dose de N e suplementação nitrogenada e no tratamento apenas com suplementação de N, sendo estes tratamentos os que apresentaram maior produção de óleo por capítulo (Tabela 8). Vale ressaltar o efeito benéfico do B em ambos os genótipos, e principalmente para a produção do genótipo Neon, que apesar da menor dose de N aplicada quando associada com o B obteve-se resultados semelhantes em relação à produção de grãos cheios e produção de óleo.

No estudo realizado por Rocha (2013), com três genótipos de girassol (Neon, Catissol e BRS324), o Neon também se destacou com alta produtividade de grãos. No entanto, segundo este autor, esse genótipo não seria o mais indicado para a extração de óleo, e sim para a produção de grãos.

Tabela 8. Produção de grãos (g.capítulo⁻¹) e produção de óleo (g.capítulo⁻¹) dos genótipos Neon e BRS321 cultivados em casa de vegetação com diferentes tratamentos de N e B.

Tratamentos	Produção de grãos cheios (g.capítulo ⁻¹)		Produção de óleo (g.capítulo ⁻¹)	
	Neon	BRS321	Neon	BRS321
(I) B + 50N	28,23 Ac	21,03 Ba	14,28 Ab	13,07 Aa
(II) B + 10N	50,21 Aa	18,32 Ba	24,06 Aa	9,63 Bab
(III) 50N	47,35 Aab	17,42 Bab	29,21 Aa	9,54 Bab
(IV) 10N	38,37 Ab	8,58 Bb	16,18 Ab	4,24 Bb
CV(%)	19,13		22,85	

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

A produção de grãos cheios (Tabela 8) do genótipo BRS321 no tratamento IV, no qual

as plantas foram submetidas a menor dose de N e não foi aplicado o B, foi inferior aos demais tratamentos.

Pode-se observar na Figura 11 que a análise de correlação entre a produção de grãos e a produção de óleo se mostra positiva e significativa. A maior produção de óleo encontrada no genótipo Neon, quando comparado com o BRS321, provavelmente ocorreu devido a sua maior produção de grãos (Tabela 8).

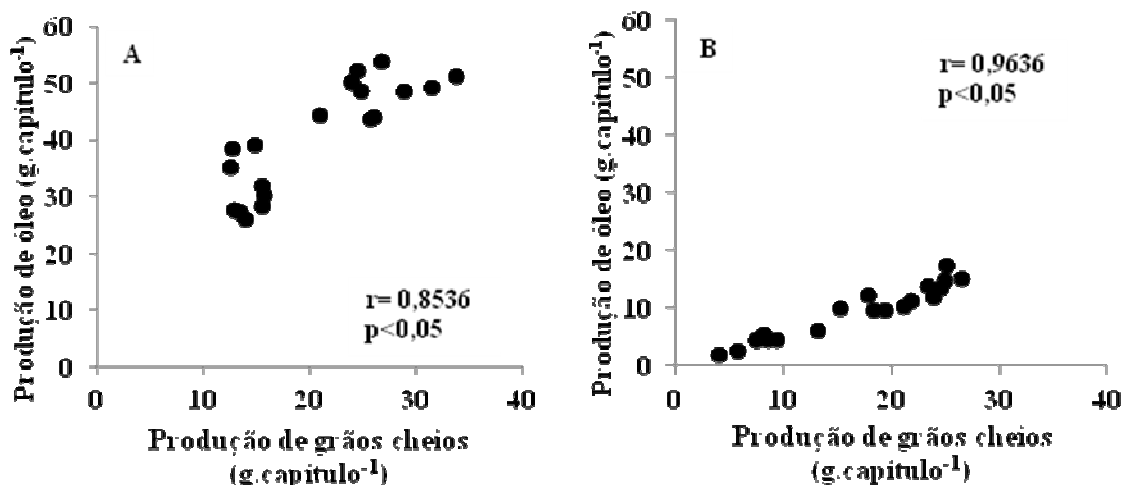


Figura 11. Correlação entre a produção de óleo (g.capítulo⁻¹) e a produção de grãos cheios (g.capítulo⁻¹) dos genótipos de girassol Neon (A) e BRS321 (B).

4.2.2 Teores e conteúdos de N e B no material vegetal e no solo

Nas análises realizadas em amostras de solo coletadas antes da aplicação dos tratamentos, foram encontradas 0,7 mg.kg⁻¹ de B e 0,8 mg.gs⁻¹ de N.

Durante o enchimento dos grãos, a planta fornece N através da absorção deste nutriente do solo e através da remobilização (SOUZA; FERNANDES, 2006). A absorção e assimilação de N, durante o período de enchimento de grãos, não são suficientes para demanda de N que os grãos necessitam devido a isso a remobilização do nutriente ocorre nas diferentes partes das plantas para suprir a quantidade necessária para os grãos (MASCLAUX-DAUBRESSE et al., 2010). Na análise realizada, os maiores teores e conteúdo de N na planta foram encontrados nos grãos, em ambos os genótipos (Tabelas 9 e 10).

O genótipo BRS321, quando comparado ao Neon, apresenta maiores teores de N nos grãos (Tabelas 9 e 10). É importante ressaltar que este genótipo obteve os maiores valores de conteúdo de N nos grãos nos tratamentos com adubação borácica (I e II) (Tabela 10), indicando uma possível maior eficiência de remobilização de N e, particularmente para esse genótipo, quando há adubação com boro.

No tratamento com apenas 50 kg de N os limbos de ambos os genótipos apresentaram maiores teores de N quando comparados com os demais tratamentos. A concentração de N no limbo pode ser utilizada como um parâmetro sensível para avaliar o status de N nas plantas, já que o pecíolo não apresenta diferença significativa quanto aos teores de N-total (Tabela 9). Atualmente, é utilizada uma folha índice como parâmetro para avaliação do status nutricional de diversas culturas, inclusive no girassol (SILVA et al., 2011; AQUINO et al., 2013). Os resultados obtidos com nosso trabalho abrem possibilidade da utilização do limbo foliar como índice para avaliação do status nutricional da cultura do girassol.

Tabela 9. Teores de N-total de grão, capítulo, limbo, pecíolo, caule, raiz e solo dos genótipos Neon e BRS321 cultivados em casa de vegetação com diferentes tratamentos com N e B.

Trat	N-total (mg de N.gms ⁻¹)						
	Grão	Capítulo	Limbo	Pecíolo	Caule	Raiz	Solo
Neon							
(I) B + 50 N	14,34 Ac	7,92 Bab	6,16 Bc	2,99 Ca	1,96 Ca	1,40 Cb	1,25 Ca
(II) B + 10 N	16,07 Ab	6,43Bc	3,20 Cd	3,01 Ca	1,36 Da	1,60 Cb	1,16 Ca
(III) 50 N	17,78 Aa	8,36 Ba	9,18 Ba	3,61 Ca	1,37 Ca	2,82 CDa	1,09 Da
(IV) 10 N	15,77 Ab	7,08 Bbc	7,82 Bb	3,45 Ca	2,27 Da	1,82 CDab	1,20 Da
BRS321							
(I) B + 50 N	36,66 Aa	6,99 ABb	9,84 Bab	4,03 CDa	3,39 CDa	4,17 CDa	1,09 Da
(II) B + 10 N	30,27 Ab	9,86 Bb	7,92 BCb	3,47 CDa	2,42 Da	2,13 Da	1,32 Da
(III) 50 N	35,75 Aa	14,89 Ba	11,18 Ba	4,35 Ca	3,35 Ca	1,59 Ca	1,59 Ca
(IV) 10 N	33,99 Aa	13,89 Ba	9,21 Cab	3,16 Da	2,86 Da	1,53 Da	1,54 Da

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

O capítulo e o limbo, depois dos grãos, são os compartimentos com maiores conteúdos de N (Tabela 10) em ambos os genótipos. O capítulo é o órgão onde os grãos estão inseridos e conseqüentemente recebe o N remobilizado para o desenvolvimento dos grãos das outras partes da planta. Maiores acúmulos de N nos grãos e nos capítulos de girassol ao final do ciclo também foram encontrados em estudo realizado por Braz et al. (2010).

Tabela 10. Conteúdo de N no grão, capítulo, limbo, pecíolo e caule dos genótipos Neon e BRS321 cultivados em casa de vegetação com diferentes tratamentos com N e B.

Trat	Conteúdo de N (mg de N.planta ⁻¹)					
	Grão	Capítulo	Limbo	Pecíolo	Caule	Raiz
Neon						
(I) B + 50 N	475,81 Ac	118,69 Ba	81,11 BCab	12,54 Ca	62,29 BCa	*
(II) B + 10 N	659,21 Ab	107,61 Ba	67,58 BCb	8,84 Ca	32,34 BCa	*
(III) 50 N	923,97 Aa	138,09 Ca	168,82 Ba	11,04 Da	59,89 CDa	*
(IV) 10 N	675,81 Ab	110,98 Ba	118,08 Bab	7,04 Ca	61,44 CBa	*
BRS321						
(I) B + 50 N	741,73 Aa	133,49 Ba	161,59 Ba	7,38 Ca	55,16 Bca	*
(II) B + 10 N	662,24 Aab	158,82 Ba	93,41 BCa	6,67 Ca	46,55 Ca	*
(III) 50 N	727,97 Aa	223,23 Ba	94,87 Ca	8,77 Ca	73,39 Ca	*
(IV) 10 N	607,86 Ab	131,14 Ba	87,16 BCa	5,75 Ca	58,17 Bca	*

*Não foram realizadas análises de conteúdo de N nas raízes. Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

O genótipo BRS321 apresentou valores de conteúdos N na parte aérea superiores aos encontrados no Neon nos tratamentos em que se aplicou B, sugerindo que há um efeito benéfico do B para o acúmulo de N para o BRS321 (Figura 12B). Ressalta-se que, no

tratamento onde se aplicou B e 50 kg de N . ha⁻¹, encontramos quantidades maiores de N nos grãos do genótipo BRS321 (Figura 12A).

No tratamento com maior dose de N e sem aplicação de boro os maiores conteúdos de N nos grãos foram encontrados no genótipo Neon (Figura 12A), sendo que o mesmo resultado não se repete na parte aérea (Figura 12B), ou seja, nessas condições este genótipo tem o comportamento de não acumular na parte aérea e mandar o N para o grão, o que é uma característica desejável. Neste o Neon conseguiu remobilizar maior quantidade de N para os grãos e isso se traduziu em alta produção de grãos e conseqüentemente em maior rendimento de óleo neste tratamento (Tabela 7).

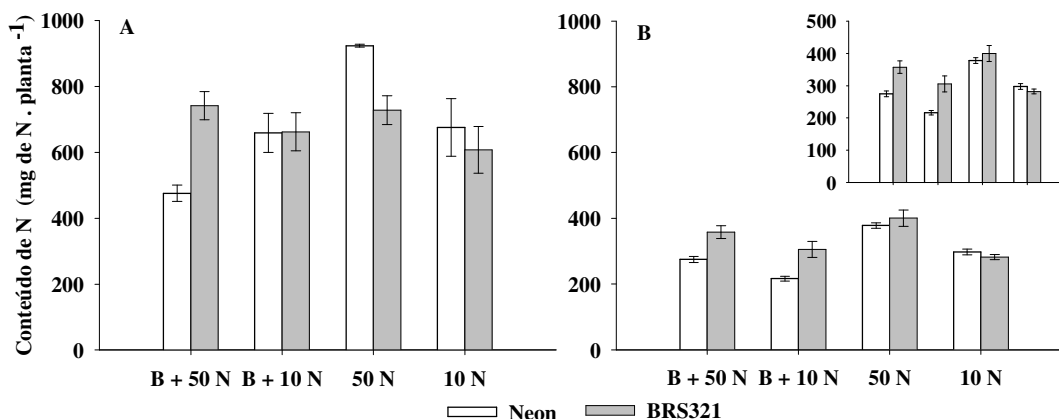


Figura 12. Conteúdo de N nos grãos (A) e na parte aérea (B) dos genótipos Neon e BRS321 cultivados em casa de vegetação com diferentes tratamentos com N e B. As barras representam o erro padrão médio das repetições.

O limbo foi um dos compartimentos que apresentou as maiores concentrações de B, já que uma das funções do B é o aumento da eficiência de utilização da energia luminosa absorvida na fotossíntese (BROADLEY et al., 2012). O maior teor de B foi observado no tratamento I, 151,38 mg.kg⁻¹ (Neon) e 126,14 mg.kg⁻¹ (BRS321) (Tabela 11). Nos tratamentos onde não foram aplicados doses de B, III e IV, foram encontrados teores médios no limbo de 48,85 mg.kg⁻¹ à 57,98 mg.kg⁻¹ de B. Tais concentrações foram inferiores as encontradas por Aquino et al. (2013), que trabalhando com híbridos e variedades de girassol, encontraram teores de médios de B no limbo de 119,25 e 140,35 mg.kg⁻¹ respectivamente, sendo que as plantas não receberam adubação de B, apenas aproveitaram o que já estava presente no solo.

O capítulo também apresentou concentrações consideráveis de boro. Assim como previsto, os compartimentos concentradores do elemento, como limbo e capítulo, apresentaram maiores teores de boro quando as plantas foram submetidas a adubação com boro (I e II) (Tabela 11).

Tabela 11. Teores de boro (mg.kg^{-1}) nos grãos, capítulo, limbo, pecíolo, caule, raiz, inflorescência e solo dos genótipos Neon e BRS321 cultivados em casa de vegetação com diferentes tratamentos com N e B.

Teores de Boro (mg.kg^{-1})								
Trat	Grão	Capítulo	Limbo	Pecíolo	Caule	Raiz	Inflorescências axilares	Solo
Neon								
(I) B + 50 N	0,08 Da	77,77 Ba	151,38 Aa	42,10 Ca	0,13 Da	20,43 CDab	-	0,54 Da
(II) B + 10 N	0,07 Ca	82,09 Aa	82,25 Ab	42,09 Ba	0,14 Ca	24,25 BCa	-	0,36 Ca
(III) 50 N	0,11 Ba	57,33 Ab	48,86 Ac	42,13 Aa	0,19 Ba	8,03 Bb	-	0,19 Ba
(IV) 10 N	0,10 Ca	51,96 Ab	56,57 Ac	42,09 Aba	0,15 Ca	11,27 BCab	-	0,18 Ca
BRS321								
(I) B + 50 N	0,07 Da	80,35 Ba	126,14 Aa	42,14 Ca	0,15 Da	24,33 CDa	0,10 Da	0,55 Da
(II) B + 10 N	0,08 Ba	67,10 Bb	103,36 Ab	41,63 Bca	0,15 Da	23,59 CDab	0,30 Da	0,30 Da
(III) 50 N	0,08 Da	48,16 Ac	52,17 Ac	42,10 Aa	0,17 Ba	14,35 Bb	0,14 Ba	0,20 Ba
(IV) 10 N	0,08 Ca	53,34 Ac	57,98 Ac	42,12 Aba	0,17 Ca	16,55 BCab	0,17 Ca	0,23 Ca

*O genótipo Neon não apresentou inflorescências axilares.

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância

De modo geral, o genótipo Neon apresentou conteúdos de B superiores ao do BRS321, nos tratamentos com adubação borácica, mesmo sendo menos responsivo ao nutriente. Assim como nos valores referentes aos teores de B, também foram encontrados maiores conteúdos de B no limbo no tratamento I (Tabela 12). No BRS321, encontramos os maiores conteúdos no limbo nos tratamentos I e II.

O capítulo também foi um compartimento com conteúdos de B relevantes em ambos os genótipos. Esse fato pode ser explicado devido exigência nutricional por B para o crescimento do tubo polínico, sendo este nutriente importantíssimo para as estruturas reprodutivas (BROADLEY et al., 2012). Ao realizar a análise das inflorescências axilares encontradas no genótipo BRS321, foi possível observar pequenas quantidades de B nesse compartimento, indicando que este compartimento não atua como dreno desse nutriente.

Os genótipos estudados apresentam características distintas em relação à exportação de B para os grãos. Os grãos do genótipo Neon apresentaram conteúdo de boro semelhantes, independentemente do tratamento. Lobo et al. (2011), trabalhando com diferentes níveis de N em plantas de girassol, verificaram uma menor exportação dos micronutrientes na menor dose N, inclusive do B, mas não encontraram interação entre doses de N com B.

Tabela 12. Conteúdo de B (mg.planta^{-1}) nos grãos, capítulo, limbo, pecíolo, caule e inflorescência dos genótipos Neon e BRS321 cultivados em casa de vegetação com diferentes tratamentos com N e B.

Conteúdo de Boro (mg.kg^{-1})						
Tratamentos	Grão	Capítulo	Limbo	Pecíolo	Caule	Inflorescências axilares
(I) B + 50 N	3,51 Ca	1479,13 Ba	1702,58 Aa	109,62 Ca	4,69 Ca	*
(II) B + 10 N	3,74 Ca	1456,74 Aa	1254,10 Ba	140,48 Ca	4,60 Ca	*
(III) 50 N	3,92 Ca	852,37 Ab	571,84 Bc	94,48 Ca	4,44 Ca	*
(IV) 10 N	3,95 Ba	724,50 Ab	568,70 Ac	95,04 Ba	4,54 Ba	*
BRS321						
(I) B + 50 N	2,66 Ca	994,89 Ba	1484,39 Aa	72,54 Ca	3,66 Ca	0,44 Ca
(II) B + 10 N	1,52 Ca	904,21 Bab	1202,53 Ab	84,78 Ca	2,77 Ca	0,40 Ca
(III) 50 N	2,06 Ca	875,26 Ab	464,79 Bc	75,87 Ca	3,14 Ca	0,64 Ca
(IV) 10 N	0,80 Ca	751,97 Ac	563,29 Bc	59,28 Ca	3,54 Ca	0,60 Ca

*O genótipo Neon não apresentou inflorescências axilares. Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Nesse experimento podemos observar uma concentração maior de boro no capítulo e limbo em ambos os genótipos (Tabela 12). Além disso, o nutriente foi encontrado em todas as partes dos genótipos de girassol, nos quatro tratamentos. O transporte do B é realizado a longa distância, através do xilema, impulsionado pela transpiração foliar, sendo assim pode encontrá-lo na parte aérea (ENGELS et al., 2012).

A partir de uma análise conjunta dos resultados obtidos pode-se afirmar que tanto o genótipo Neon como o BRS321 apresentam particularidades distintas em relação a exigência nutricional e produção de grãos e óleo. Todavia, essa análise necessita de constatação em trabalhos experimentais conduzidos sob condições de campo.

5. CONCLUSÕES

O genótipo Neon quando cultivado com N-NH_4^+ apresentou maior V_{max} e menor volume radicular, o N-NH_4^+ está sendo prontamente assimilado nas raízes, ou ainda, pode ser indicio de maior número de sítios de transporte para esse íon nas raízes.

Apesar de apresentar menor valor de V_{max} , plantas supridas com 2,0 mM de N-NO_3^- apresentaram maior biomassa do que as supridas com N-NH_4^+ , o que pode indicar um maior potencial de utilização do N nítrico. No cultivo com menor dose de N (0,2 mM), as plantas não apresentaram diferenças no acúmulo de biomassa, sugerindo que nessas condições não há preferência pela fonte de N utilizada. Através da análise de teor de N-NO_3^- nas partes das plantas, o pecíolo foi indicado como sendo o compartimento preferencial para o acúmulo de N-NO_3^- .

Ambos os genótipos estudados apresentaram particularidades distintas em relação à adubação borácica. A combinação entre o fornecimento de maior quantidade de B com adubação nitrogenada é primordial para a produção de óleo e grãos para genótipo BRS321. Já o Neon foi mais responsivo em termos de produção de grãos com menos insumos, pois no tratamento com B e menor dose de N apresentou produção de grãos cheios, equivalente ao tratamento de maior dose de N demonstrando o efeito benéfico da aplicação de boro para a produção de grãos e economia de fertilizantes nitrogenados para este genótipo.

Os resultados apontam o limbo foliar como a parte mais sensível para avaliar o status de N na planta de girassol.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-MOTAGALLY, F. M. F.; OSMAN, E. A. Effect of nitrogen and potassium fertilization combinations on productivity of two sunflower cultivars under East of El-ewinate conditions. **American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.**, v.8, n.4, p.397-401, 2010.
- ABREU, C. A. de; ABREU, M. F.; VAN RAIJ, B.; BATAGLIA, O. C.; ANDRADE, J. C. de. Extraction of boron from soil by microwave heating for ICP OES determination. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.25, n.19-20, p.3321-3333, 1994.
- AQUINO, L. A.; SILVA, F. D. B; BERGER, P. G. Características agronômicas e o estado nutricional de cultivares de girassol irrigado. **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v. 17, n. 5, p. 551-557, 2013.
- ARRUDA, L. N. **Metilação diferencial do DNA e metabolismo do nitrogênio em variedades de arroz submetidas a alto e baixo suprimento de nitrato**. 2014. 64f. Dissertação de Mestrado (Curso de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2014.
- ASLAM, M.; TRAVIS, R.L.; HUFFAKER, R.C. Comparative induction of nitrate and nitrite uptake and reduction systems by ambient nitrate and nitrite in intact roots of barley (*Hordeum vulgare L.*) seedlings. **Plant Physiology**, v.102, p.811-819, 1993.
- ASLAM, M.; TRAVIS, R.L.; HUFFAKER, R.C. Comparative kinetics and reciprocal inhibition of nitrate and nitrite uptake in roots of uninduced and induced barley (*Hordeum vulgare L.*) seedlings. **Plant Physiology**, v. 99, p.1124-1132, 1992.
- BAPTISTA, J.A.; FERNANDES, M.S.; SOUZA, S.R. Cinética de absorção de amônio e crescimento radicular das cultivares de arroz Agulha e Bico Ganga. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 35:1325-1330, 2000.
- BORGES, E. A.; LOSS, A.; SILVA, E. E.; SOUZA, S.R.; FERNANDES, M. S. Cinética de absorção de amônio e efluxo de prótons em variedades de milho. **Ciências Agrárias**, Londrina, v.30, n.3, p.513-526, 2009.
- BRAZ, M. R. S.; ROSSETTO, C. A. V. Acúmulo de nutrientes e rendimento de óleo em plantas de girassol influenciados pelo vigor dos aquênios e pela densidade de semeadura. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4Sup1, p. 1193-1204, 2010.
- BRITTO, D. D. M. C.; SANTOS, C. D.; GONÇALVES, F. V.; CASTRO, R. N.; SOUZA, S.R. Effects of nitrate supply on plant growth, nitrogen, phosphorus and potassium accumulation, and nitrate reductase activity in crambe. **Journal of Plant Nutrition**, 36:275–283, 2013.
- BROADLEY, M.; BROWN, P.; ÇAKMAK, I.; RENGEL, Z.; ZHAO, F. Function of nutrients: micronutrients. In: **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**. 3rd edn. Londres, UK: Academic Press is an imprint of Elsevier, 643p., 2012.
- BROWN, P. H.; SHELPS, B. J. Boron mobility in plants. **Plant and soil**, v.193, n.1-2, p.85-101, 1997.
- CALLE MANZANO, C. L. de la. Carencia de boro en girasol. **Hojas Divulgadoras**, Madrid, n.7, 12p, 1985.

- CÂMARA, G. M. de S. Girassol: Tecnologia da Produção. In: **Plantas Oleaginosas**. Piracicaba: ESALQ, Departamento de Produção Vegetal, 2003. p. 153-180.
- CASTIGLIONI, V. B. R.; BALLA, A.; CASTRO, C. de; SILVEIRA, J. M. **Fases de desenvolvimento da planta de girassol**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1997. 24p. (EMBRAPA-CNPSo. Documento, 59).
- CASTRO, C. de; CASTIGLIONI, V. B. R.; BALLA, A.; LEITE, R. M. V. B. deC.; KARAM, D.; MELLO H.C.; GUEDES, L.C.A.; FARIAS, J. R. B. **A cultura do girassol**. Londrina, EMBRAPA- CNPSo. 1997. 36p (EMBRAPA-CNPSo. Circular Técnica, 13).
- CATALDO, D.; HARRON, M.; SCHARADER, L.E. e YOUNGS, V.L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communication in Soil Science and Plant Analysis**, New York, US, v.6, p.853-855, 1975.
- CEVILLA, L. M.; BLASCO, B.; RÍOS, J. J.; ROSALES, M. A.; RUBIO-WILHELMI, M. M.; SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, E.; ROMERO L.; RUIZ, J. M. Response of nitrogen metabolism to boron toxicity in tomato plants. **Plant Biology**, 11, p.671–677, 2008.
- CHARDON, F, NÖE, V, MASCLAUX-DAUBRESSE. Improve yield and seed quality. **Journal of Experimental Botany**, Vol. 63, No. 9, p. 3401–3412, 2012. doi:10.1093/jxb/err353 Advance Access publication 9 January, 2012.
- COMETTI, N. N.; FURLANI, P. R.; RUIZ, H. A. & FILHO, E. I. F. Soluções nutritivas: formulações e aplicações. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição Mineral de Plantas**. Ed. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 432p., Viçosa, 2006.
- DECHEN, A.R.; NATHTIGALL, G.R., Micronutrientes. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição Mineral de Plantas**. Ed. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 432p., Viçosa, 2006.
- EMBRAPA, 2011. Novas cultivares de girassol da Embrapa chegam ao mercado. Disponível em: http://www.spm.embrapa.br/noticias/noticia_completa/115/. Acesso em 15 de maio de 2014.
- ENGELS, C.; KIRKBY, E.; WHITE, P. Mineral nutrition, yield and source-sink relationships. In: **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**. 3rd edn. Londres,UK: Academic Press is an imprint of Elsevier, 643p., 2012.
- FAGUNDES, M. H. 2002. Sementes de girassol: alguns comentários. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em 5 de maio de 2014.
- FARDEN, K. J. S.; ROBERTSON, J. G. Methods for studying enzyme involved in metabolism related to nitrogen. In: BERGSEN F.J. ed. **Methods for Evaluating Biological Nitrogen Fixation**, Chichester: John Wiley, p.265-314, 1980.
- FELKER, P. Micro determination of nitrogen in seed protein extracts. **Analytical Chemistry**, v.49, 1980, 1977.
- FERNANDES, M. S. N carriers, light and temperature influences on the free amino acid pool composition of rice plants. **Turrialba**, v.33, n.3, p.297-301, 1984.
- GOJON, A.; KROUK, G.; WALKER, F.P.; LAUGIER, E. Nitrate transceptor(s) in plants. **Journal of Experimental Botany**, v.62, n.7, p. 2299–2308, 2011.
- GOLDBERG, S. Reactions of boron with soils. **Plant and Soil**, v.193, p.35–48, 1997.
- GOOD, A.G.; SHRAWAT A. K.; MUENCH D. G. Can less yield more? Is reducing nutrient input into the environment compatible with maintaining crop production? **TRENDS in Plant Science**, v. 9, n.12, p., December 2004.

- GUPTA, U. C. Boron. In: BARKER A.V.; PILBEAM, D. J. **Handbook of Plant Nutrition**. Boca Raton, FL, USA: Taylor & Francis Group. , 2007.
- HAGEMANN, J.W. MICOLAJCZAK, K.L. WOLFF, I.A. Purification of erucic acid by low-temperature crystallization. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 39, n. 4, p. 196-197, 1962.
- HAWKESFORD, M; HORST, W.; KICHEY, T.; LAMBERS, H.; SCHJOERRING, J.; MOLLER, I. S.; WHITE, P. Functions of macronutrients. In: **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**. 3rd edn. Londres,UK: Academic Press is an imprint of Elsevier, 643p., 2012.
- HOAGLAND, D. R., E D. I. ARNON. The water-culture method for growing plants without soil. University of California Agricultural of Experimental Station Bulletin 347: 1–32, 1950.
- HU, H.; BROWN, P. H. Absorption of boron by plant roots. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.193, n.1/2, p.49-58, jun. 1997.
- IKRAM, S.; BEDU, M.; DANIEL-VEDELE, F.; CHAILLOU, S.; CHARDON, F. Natural variation of Arabidopsis response to nitrogen availability. **Journal of Experimental Botany**, v.63, n.1, p.91–105, 2012.
- IVANOFF, M. E. A.; UCHÔA, S. C. P.; ALVES, J. M. A.; SMIDERLE, O. J.; SEDIYAMA, T. Formas de aplicação de nitrogênio em três cultivares de girassol na savana de Roraima. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 41, n.3, p.319-325, 2010.
- KNOTHE, G. “Designer” Biodiesel: Optimizing Fatty Ester Composition to Improve Fuel Properties. **Energy & Fuels**, v. 22: 1358-1364, 2008.
- KRUDNAK, A.; WONPRASAIID, S.; MACHIKOWA, T. Boron affects pollen viability and seed set in sunflowers. **African Journal of Agricultural Research**, v.8 (2), p.162-166, janeiro, 2013.
- KASTORI, R.; PETROVIC N. Effect of boron on nitrate reductase activity in young sunflower plants. **Journal of Plant Nutrition**, v.12, p.621–632, 1989.
- LAM, H.-M.; COSCHIGANO, K. T.; OLIVEIRA, I. C.; MELO-OLIVEIRA R., CORUZZI, G. M. The molecular-genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants Annual Review. *Plant Physiol.* **Plant Molecular Biology**, v.47, p.569–93, 1996.
- LIMA, A. D.; VIANA, T. V. A.; AZEVEDO, B. M.; MARINHO, A. B.; DUARTE, J. M. L. (2013). Adubação borácica na cultura do girassol. **REVISTA AGRO@ MBIENTE ON-LINE**, v. 7, n. 3, p. 269-276, 2013.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações. Piracicaba: **Potafós**, 308 p, 1997.
- FERNÁNDEZ- MARTÍNEZ, J.M.F.; VICH, B.P. e VELASCO, L. Sunflower. In: **Handbook of plant breeding**. Springer Dordrecht Heidelberg London New York, 2009.
- MASCLAUX- DAUBRESSE, C.; DANIEL-VEDELE, F.; DECHORGNAT, J.; CHARDON, F.; GAUFICHON, L.; SUZUKI, A. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. **Annals of botany**, v.105, n.7, p.1141-1157, 2010.
- MIRANDA, K. M.; ESPEY, M. G.; WINK, D. A. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. **NITRIC OXIDE: Biology and Chemistry**, v. 5, n. 1, p. 62–71, 2001.

- MIWA, K.; FUJIWARA, T. Boron transport in plants: co-ordinated regulation of transporters. **Annals of Botany**, v.105, p.1103 – 1108, 2010.
- NACHIANGMAI, D., DELL, B., BELL, R., HUANG, L.; RERKASEM, B. Enhanced boron transport into the ear of wheat as a mechanism for boron efficiency. **Plant and Soil**, v.264, n.1-2), p.141-147, 2004.
- NOBRE, R.G.; GHEYI, H. R.; CORREIA, K. G.; SOARES, F. A. L.; ANDRADE, L. O. Crescimento e floração do girassol sob estresse salino e adubação nitrogenada. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 3, p. 358-365, jul-set, 2010.
- PORTO, W. S.; CARVALHO, C. G. P. DE; PINTO, R. J. B.; OLIVEIRA, M. F. DE; OLIVEIRA A. C. B. DE. Adaptabilidade e estabilidade de genótipos de girassol para a região subtropical do Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.9, p.2452-2459, 2009.
- POWER, P. P; WOODS, W. G. The chemistry of boron and its speciation in plants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.193, n.1/2, p.1-14, jun. 1997.
- QAHAR, A.; KHAN, Z.H.; ANWAR, S.; BADSHAH, H.; ULLAH, H. Nitrogen use efficiency, yield and other characteristics of sunflower (*Helianthus annuus*L.) hybrids as affected by different levels of nitrogen. **Biological Diversity and Conservation**, p.121-125, 2010.
- RAMOS, L. P.; KUCEK, K. T.; DOMINGOS A. K.; WILHELM H. M. Biodiesel: Um projeto de sustentabilidade econômica e sócio-ambiental para o Brasil. **Rev. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n.31, p.28-37, 2003.
- RAMOS, M. J; FERNÁNDEZ, C. M.; CASAS, A.; RODRÍGUEZ, L.; PÉREZ, Á. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. **Bioresource Technology**, v.100, n.1, 261-268, 2009.
- RASOOL, F. U.; HASSAN, B.; JAHANGIR, A. Growth and yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.) as influenced by nitrogen, sulphur and farmyard manure under temperate conditions. **SAARC Journal of Agriculture**, v.11, n.1, p.81-89, 2013.
- ROCHA, J. G. **Produção de Óleo e Avaliações Metabólicas em Genótipos de Girassol (*Helianthus annuus* L.) sob Diferentes Manejos e Doses de Nitrogênio**. 2013. 101f. Dissertação de Mestrado. (Curso de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2013.
- SANTOS, L. A. **Absorção e remobilização de NO₃⁻ em arroz (*Oryza sativa*): Atividade das bombas de prótons e a dinâmica do processo**. Seropédica: UFRRJ, 2006.74f. (Dissertação de Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo).
- SANTOS, L. A., BUCHER, C. A., DE SOUZA, S. R.; FERNANDES, M. S. Effects of nitrogen stress on proton-pumping and nitrogen metabolism in rice. **Journal of plant nutrition**, v.32, n.4, p.549-564, 2009.
- SANTOS, L. A.; SANTOS, W. A.; SPERANDIO, M. V. L.; BUCHER, C. A.; DE SOUZA, S. R. A; FERNANDES, M. S. Nitrate uptake kinetics and metabolic parameters in two rice varieties grown in high and low nitrate. **Journal of Plant Nutrition**, v. 34, n. 7, p. 988-1002, 2011.
- SCHNEITER, A. A.; MILLER, J.F. Description of sunflower growth stages. **Crop Sci.**, v.21, p.901-903, 1981.
- SIDDIQ, M.Y.; GLASS, A.D.M.; RUTH, T.J.; RUFTY T.W. Studies of the uptake of nitrate in barley: I kinetics of ¹³NO₃⁻ influx. **Plant physiology**, v.93, p.1426-1432, 1990.

- SIEBENEICHLER, S. C.; MONNERAT, P. H.; CARVALHO, A. J. C. D.; SILVA, J. A. D.; MARTINS, A. O. Boron mobility in pineapple. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.27, n.2, p.292-294, 2005.
- SILVA, P. C. C.; COUTO J. L. DO; SANTOS A. R. DOS. Absorção dos íons amônio e nitrato e seus efeitos no desenvolvimento do girassol em solução nutritiva. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.10, n.2, p.97-104, 2010.
- SILVA, H. R. F.; DE AQUINO, L. A.; BATISTA, C. H. Efeito residual do adubo fosfatado na produtividade do girassol em sucessão ao algodoeiro. **Bioscience Journal**, v.27, n.5, p.786-793, 2011.
- SOARES, L. D. B., ARAÚJO, E. D. S., ALVES, B. J. R., BODDEY, R.; URQUIAGA, S. Eficiência energética comparada das culturas do girassol e soja, com aptidão para a produção de biodiesel no Brasil. **Embrapa Agrobiologia. Circular Técnica**, v.25, 2008.
- SOUZA, A.; OLIVEIRA, M.F.; CASTIGLIONI, V.B.R. O boro na cultura do girassol. **Ciências Agrárias**, Londrina, v.25, n.1, p.27-34, 2004.
- SOUZA, S. R.; FERNANDES, M. S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição Mineral de Plantas**. Ed. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 432p., Viçosa, 2006.
- SPERANDIO, M. V. L.; SANTOS, L. A., BUCHER, C. A., FERNANDES, M. S.; DE SOUZA, S. R. Isoforms of plasma membrane H⁺-ATPase in rice root and shoot are differentially induced by starvation and resupply of NO₃⁻ or NH₄⁺. **Plant science**, n.180, v.2, p.251-258, 2011.
- TAHIR, M.; ASHRAF, S.; IBRAHIM, M. Effect of Foliar Application of Boron on Yield and Quality of Sunflower (*Helianthus annuus* L.), 2013.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004, 719p. Tradução de SANTAREM, E. R.; MARIATH, J. E. A.; ASTARITA, L. V.; DILLENBURG, L. R.; ROSA, L. M. G.; OLIVEIRA, P. L. 3a ed.
- TANAKA, M.; FUJIWARA, T. Physiological roles and transport mechanisms of boron: perspectives from plants. **Pflugers Archiv - European Journal of Physiology**, v.456, n.4, p.671-677, 2008.
- TAKANO, J.; MIWA, K.; FUJIWARA, T. Boron transport mechanisms: collaboration of channels and transporters. **Trends in plant science**, v. 13, n. 8, p. 451-457, 2008.
- TEDESCO, M. J. Extração simultânea de N, P, K, Ca e Mg em tecido de plantas por digestão com H₂O₂-H₂SO₄. UFRGS. 1982. 23p.
- TISCHNER, R. Nitrate uptake and reduction in higher and lower plants. **Plant Cell and Environment**, v. 23, p.1005-1024, 2000.
- TSAY, Y. F.; CHIU, C.C.; TSAI, C.B.; HO, C. H.; HSU, P.K. Nitrate transporters and peptide transporters. **FEBS Letters**, v.581, p.2290-2300, 2007.
- URAGUCHI, S.; KATO, Y.; HANAOKA, H.; MIWA, K.; FUJIWARA, T. Generation of boron-deficiency-tolerant tomato by over expressing an Arabidopsis thaliana borate transporter AtBOR1. **Frontiers in plant science**, v.5, 2014.
- VERT, G.; CHORY, J. A Toggle switch in Plant nitrate Uptake. **Cell**, v.138, n.6, p.1064-1066, 2009.
- WALLSGROVE, R.M.; TURNER, J. C.; HALL, N. P.; KENDALL, A. C.; BRIGHT, S. W. J. Barley mutants lacking chloroplast glutamine synthetase-biochemical and genetic analysis.

Plant Physiology, v.83, p.155-158, 1987.

WICKERT, S., MARCONDES, J., LEMOS, M. V.; LEMOS, E. G. M. Nitrogen assimilation in citrus based on CitEST data mining. **Genetics and Molecular Biology**, v.30, p.810-818, 2007.

WILLIAMS, L.E. e MILLER, A.J. Transporters responsible for the uptake and partitioning of nitrogenous solutes. **Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.**, v.52, p.659-688, 2001.

XU, G.; FAN, X.; MILLER, A.J. Plant Nitrogen Assimilation and Use Efficiency. **Plant Biology**, v.63, p.5.1–5.30, 2012.

YANIV, Z. SHABELSKY, E. SCHAFFERMAN, D. GRANOT, I. KIPNIS, T. Oil and fatty acid changes in Sinapis and Crambe seeds during germination and early development. **Industrial Crops and Products**, v.9, p.1-8, 1998.

YEMM, E. W. e COCKING, E. C. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analytical Biochemistry**, v.80, p.209-213, 1955.

YEMM, E. W. e WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrate in plants extracts by anthrone. **Biochemistry**, v.57, p.508-514, 1954.

ZAGONEL, J.; MUNDSTOCK, C.M. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura em duas cultivares de girassol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, n.9, p.1487–1492, 1991.

ZOBIOLE L.H.; CASTRO C. DE; OLIVEIRA F.A. DE; JUNIOR A. O. DE. Marcha de absorção de macronutrientes na cultura do girassol. **R. Bras. Ciência do. Solo**, v.34, p.425-433, 2010.