Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.01, 2025
ISSN 2178-6925

DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NITRATO DE AMÔNIO (NH_4NO_3) AFETAM O METABOLISMO DO NITROGÊNIO E O DESENVOLVIMENTO DE *Acmella oleracea* L. (Asteraceae) CULTIVADO IN VITRO

DIFFERENT CONCENTRATIONS OF AMMONIUM NITRATE (NH_4NO_3) AFFECT NITROGEN METABOLISM AND THE DEVELOPMENT OF *Acmella oleracea* L. (Asteraceae) GROWN IN VITRO

Karine Santos dos Santos
Graduada em Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia, Brasil
E-mail: karinesan1806@gmail.com

Vitória Cunha Martins
Graduada em Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia, Brasil
E-mail: vitoriamcmiranda@gmail.com

Sara Cristine Farias de Oliveira
Mestranda em Biotecnologia, Universidade Federal do Pará, Brasil
E-mail: saracristinefariasdeoliveira@gmail.com

Gabriel Gustavo Tavares Nunes Monteiro
Mestrando em Ciências, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Brasil
E-mail: guto.monteiro@usp.br

Cândido Ferreira de Oliveira Neto
Doutor em Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia, Brasil
E-mail: candidooliveiraneto@gmail.com

Joanne Moraes de Melo Souza

Doutora em Química, Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: joanne.souza@ufra.edu.br

Resumo

A deficiência de nitrogênio em hortaliças folhosas, como *Acmella oleracea*, afeta o crescimento e o metabolismo vegetal, impactando negativamente a produtividade. O objetivo deste estudo foi avaliar o metabolismo do nitrogênio e o desenvolvimento de *A. oleracea* cultivada in vitro sob diferentes concentrações de nitrato de amônio (NH_4NO_3). As sementes foram germinadas em meio MS com três concentrações de sacarose (30 g L^{-1} - T1; 20 g L^{-1} – T2; 10 g L^{-1} – T3) e submetidas à análise biométrica após 4 semanas. Não houve diferença significativa nas variáveis biométricas de número de folhas e comprimento da raiz, exceto para comprimento da parte aérea e matéria fresca das plântulas no meio com 30 g L^{-1} de sacarose. Na etapa de micropropagação, ápices caulinares foram cultivados em meio MS básico (T1), MS com ½ NH_4NO_3 (T2) e MS com 2x NH_4NO_3 (T3), suplementados com 0,4 mg L^{-1} de BAP. Após 4 semanas, foram realizadas medições biométricas e análises bioquímicas. T1 apresentou desenvolvimento crítico, enquanto T1 e T3 mostraram formação de calos na base dos explantes, dificultando o enraizamento. No T3, observou-se aumento significativo nos teores de nitrato (26,52%), amônio livre (150,68%) e aminoácidos (94,12%), mas uma redução de 20,7% nos carboidratos solúveis totais. O uso de 0,4 mg L^{-1} de BAP causou toxicidade em plantas de *A. oleracea*. O aumento das concentrações de N na forma de NH_4NO_3 pode causar redução no metabolismo do carbono. Assim, concentrações adequadas de nitrato de amônio devem ser ajustadas para otimizar o desenvolvimento de *A. oleracea* cultivada in vitro.

Palavras-chave: Jambu; Micropropagação; Nitrogênio; BAP.

Abstract

Nitrogen deficiency in leafy vegetables, such as *Acmella oleracea*, affects growth and plant metabolism, negatively impacting productivity. This study aimed to evaluate the nitrogen metabolism and development of *A. oleracea* cultivated in vitro under different concentrations of ammonium nitrate (NH_4NO_3). Seeds were germinated in MS medium with three sucrose concentrations (30 g L^{-1} - T1; 20 g L^{-1} - T2; 10 g L^{-1} - T3) and subjected to biometric analysis after 4 weeks. No significant differences were observed in the biometric variables for the number of leaves and root length, except for shoot length and fresh weight in the medium with 30 g L^{-1} of sucrose. In the micropropagation stage, shoot tips were cultivated in basic MS medium (T1), MS with ½ NH_4NO_3 (T2), and MS with 2x NH_4NO_3 (T3), all supplemented with 0.4 mg L^{-1} of BAP. After 4 weeks, biometric measurements and biochemical analyses were performed. T1 exhibited critical development, while T1 and T3 showed callus formation at the base of the explants, hindering root formation. In T3, a significant increase was observed in nitrate (26.52%), free ammonium (150.68%), and amino acid (94.12%) levels, accompanied by a 20.7% reduction in total soluble carbohydrates. The use of 0.4 mg L^{-1} of BAP caused toxicity in *A. oleracea* plants. Increased nitrogen concentrations in the form of NH_4NO_3 may lead to reduced carbon metabolism. Therefore, appropriate ammonium nitrate concentrations should be adjusted to optimize the development of *A. oleracea* cultivated in vitro.

Keywords: Jambu; Micropropagation; Nitrogen; BAP.

1. Introdução

A espécie *Acmella oleracea* L., conhecida popularmente como jambu, agrião-do-norte ou agrião-do-pará, é uma planta alimentícia não convencional (PANC), amplamente encontrada e cultivada na Região Norte do Brasil. Pertencente à família Asteraceae, é caracterizada como uma erva de porte herbáceo, ramificada e de crescimento rasteiro. Possui flores hermafroditas dispostas em capítulo globular, pedúnculo longo, axilares ou terminais localizados em folhas opostas, pecioladas, ovais, triangulares ou alongadas. As raízes são axiais com grande crescimento secundário. Essa olerícola pode atingir cerca de 20 cm a 50 cm, dependendo das condições edafoclimáticas, genéticas e de cultivo (Relvas *et al*., 2024).

As principais variedades de jambu cultivadas no estado do Pará, são jamburana, com inflorescência do tipo capítulo amarelo-claro, folhas de coloração verde-claro que possuem mais de 300 floretes, e a variedade nazaré, caracterizada por halos de cor arroxeada no ápice da inflorescência e folhas de aspecto verde-escuro, podendo haver pigmentação roxa na folhagem e nos ramos (Ferreira *et al*., 2021).

A utilização por comunidades tradicionais destaca a importância medicinal dessa planta, principalmente no que tange aos efeitos dos seus compostos bioativos contra dor de dente, garganta inflamada e malária (Priti; Manjusha, 2022). Dentre esses compostos, o espilantol é predominante entre os metabólitos secundários do jambu, caracterizando-se como uma N-alquilamida alifática responsável pelas propriedades organolépticas do jambu. O extrato dessa substância tem propriedades analgésicas, antibacterianas e antioxidantes que são de grande interesse para indústria farmacêutica e cosmética (Guimarães *et al*., 2023). Além de suas aplicações medicinais, é também responsável pela sensação de dormência na língua, característica peculiar de pratos típicos da Região Norte do Brasil, atribuída à interação do espilantol com os receptores sensoriais das mucosas bucais (Aktar *et al*., 2024).

A produtividade das plantas está intrinsecamente relacionada com as práticas de manejo adotadas no cultivo e dos fatores abióticos, como temperatura, luminosidade e a disponibilidade de água e nutrientes; e bióticos, como a incidência de pragas e doenças (Silva *et al*., 2023). Dentre os nutrientes minerais,

destaca-se o nitrogênio (N), que é um macronutriente, ou seja, um dos elementos minerais que as plantas necessitam em maior quantidade. A deficiência desse mineral impede diretamente o crescimento vegetal, pois está presente em muitos componentes celulares vegetais, incluindo clorofila, aminoácidos e ácidos nucleicos (Cassim *et al*., 2024).

No cultivo in vitro, o desenvolvimento de protocolos eficientes torna-se uma importante ferramenta para otimização na produção de mudas ao possibilitar a compreensão da influência de fatores nutricionais, como a disponibilidade de N no metabolismo da planta (Li, 2020).

A disponibilidade de nitrogênio no meio de cultura influencia o crescimento e a morfogênese de culturas cultivadas in vitro. A maioria dos meios de cultura oferecem N disponível em forma de amônio (NH_4^+) combinado à nitrato (NO_3^-), pois quando fornecido sozinho ao meio, tende a causar toxicidade (Moraes *et al*., 2023).

Na micropropagação, a composição do meio nutritivo é fundamental para promover a alta taxa de regeneração e multiplicação dos explantes no cultivo in vitro. Dentre os meios de cultura, o meio MS (Murashige; Skoog, 1962) é um dos mais utilizados em trabalhos de cultura de tecidos. Usualmente, os meios de cultura são constituídos por sais minerais (macronutrientes e micronutrientes), vitaminas, fontes de carbono e reguladores de crescimento. Um dos reguladores de crescimento vegetal exógenos mais utilizados na micropropagação é a citocinina 6-benzilaminopurina (BAP) caracterizado pelo papel essencial na diferenciação e regeneração de plantas, estimulando a indução de brotações adventícias (Almeida *et al*., 2020).

Objetivou-se avaliar o metabolismo do nitrogênio e desenvolvimento de *Acmella oleracea* cultivado in vitro com a influência de diferentes concentrações de nitrato de amônio (NH_4NO_3), visando compreender sua influência no crescimento da cultura do jambu.

2. Metodologia

2.1. Material Vegetal e Germinação in vitro

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia e no Laboratório

de Fisiologia Vegetal localizados no Instituto de Ciências Agrárias, ambos pertencentes à Universidade Federal Rural da Amazônia, campus de Belém, Pará, Brasil.

Plantas sadias de *Acmella oleracea* da cultivar jamburana, provenientes de propagação sexuada, cultivadas em vasos com solo argilo-arenoso e mantidas em casa de vegetação com temperatura média de 28°C e umidade relativa de 80%, foram utilizadas como matrizes para as sementes, coletadas após 35 dias do plantio das mudas. As sementes foram fornecidas por pesquisadores da Universidade Federal Rural da Amazônia de cultivo experimental próprio, situado nas coordenadas 01°27”14.46’S 48°26”18.61’O.

As etapas de assepsia e desinfestação das sementes abrangeram respectivamente: a) lavagem em água corrente e sabão neutro; b) imersão em álcool etílico a 70% por 1 minuto e em hipoclorito de sódio (NaClO) a 2% por 30 minutos e c) três lavagens com água destilada autoclavada, todas essas etapas ocorreram em câmara de fluxo laminar.

As sementes foram inoculadas in vitro em frascos contendo 20 mL de meio MS, solidificados com 2,5 g L^{-1} de phytagel e pH 5,8, previamente esterilizados a 120ºC e pressão de 1 atm., durante 20 minutos. Os meios foram suplementados com diferentes concentrações de sacarose: 30 g L^{-1} (T1); 20 g L^{-1} (T2) e 10 g L^{-1} (T3). Foram inoculadas 90 sementes em 15 frascos, portanto, cada frasco possuía 6 sementes. Os frascos foram mantidos em incubadora B.O.D sob fotoperíodo de 16h com lâmpadas LED com intensidade de fluxo de fótons de 25 µmol m^2 s^{-1} e temperatura de 25 ± 3ºC. Após 4 semanas, realizou-se as medições de parâmetros biométricos das plântulas como comprimento da parte aérea (CPA), número de folhas, comprimento de raízes (CMR) e matéria fresca (MFP).

2.2. Micropropagação in vitro

Ápices caulinares (0,2 cm de diâmetro e 1 cm de comprimento) de plântulas de *A. oleracea* oriundos do experimento de germinação in vitro foram utilizados como explantes e posteriormente inoculados nos meios de cultura MS básico (T1), MS modificado com metade das concentrações de nitrato de amônio (½ NH_4NO_3) (T2) e meio MS modificado com o dobro da concentração de nitrato de

amônio (2x NH_4NO_3) (T3) (Tabela 1).

Tabela 1 - Composição química dos meios MS básico (T1), MS modificado com metade da concentração de nitrato de amônio (½ NH_4NO_3) (T2) e MS modificado com o dobro da concentração de nitrato de amônio (2x NH_4NO_3) (T3), utilizados no ensaio de micropropagação in vitro de *Acmella oleracea.*

Componentes	MS básico mg L^{-1} + suplementações (T1)	MS modificado mg L^{-1} + suplementações (T2)	MS modificado mg L^{-1} + suplementações (T3)
Macronutrientes			
NH_4NO_3	1650	825	3300
KH_2PO_4	170	170	170
KNO_3	1900	1900	1900
$MgSO_4.7H_2O$	370	370	370
$CaCl_2.2H_2O$	440	440	440
Micronutrientes			
$MnSO_4.4H_2O$	22,3	22,3	22,3
$ZnSO_4.7H_2O$	8,6	8,6	8,6
H_3BO_3	6,2	6,2	6,2
KI	0,83	0,83	0,83
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0,25	0,25	0,25
$CuSO_4.5H_2O$	0,025	0,025	0,025
$CoCl_2.6H_2O$	0,025	0,025	0,025
Fe-EDTA			
$FeSO_4.7H_2O$	27,8	27,8	27,8
NA_2EDTA	37,3	37,3	37,3
Vitaminas			
Tiamina HCl (B1)	0,1	0,1	0,1
Piridoxina HCl	0,5	0,5	0,5
Ácido Nicotínico	0,5	0,5	0,5
Glicina	2,0	2,0	2,0
Mio-Inositol	100	100	100
Sacarose (g L^{-1})	30	30	30
BAP (mg L^{-1})	0,4	0,4	0,4
Phytagel (g L^{-1})	2,5	2,5	2,5

Fonte: Autores (2024).

A tabela 1 apresenta a composição química dos meios de cultivo utilizados no ensaio de micropropagação in vitro. Os meios foram suplementados com 0,4 mg L^{-1} da citocinina 6-benzilaminopurina (BAP), 2,5 g L^{-1} de phytagel e o pH ajustado

para 5,8, posteriormente, foram autoclavados por 20 minutos a 120ºC a pressão de 1 atm. Além disso, adicionou-se ao meio de cultura 30 g L^{-1} de sacarose, o qual apresentou resultados favoráveis no ensaio de germinação das sementes in vitro. Os frascos foram mantidos em B.O.D a 25 ± 2°C com fotoperíodo de 16h e intensidade de fluxo de fótons de 25 µmol m^2 s^{-1} por 4 semanas. O ensaio de micropropagação foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, constituído de três tratamentos com cinco repetições. Cada repetição foi representada por um frasco contendo dois explantes de ápice caulinar de *A. oleracea*.

2.3. Análise Biométrica e Bioquímica de Plântulas Micropropagadas in vitro

Após 4 semanas do ensaio de micropropagação in vitro de *A. oleracea* em incubadora B.O.D, prosseguiu-se com as análises dos parâmetros biométricos das plântulas micropropagadas como comprimento da parte aérea (CPA), número de folhas, número de brotações, comprimento da maior raiz (CMR) e matéria fresca (MFP). Posteriormente, o material vegetal foi submetido a secagem em estufa a uma temperatura de 60 ± 5°C por um período de 48 horas, para a determinação da massa seca.

Foram utilizados 50 mg de pó liofilizado das folhas de *A. oleracea* e, em seguida, foi realizado uma extração com 5 ml de água deionizada duplamente destilada a 100°C por 30 minutos e centrifugação a 3.000 rpm por 10 minutos para a obtenção do extrato bruto. O extrato obtido foi utilizado para a determinação dos teores de nitrato (NO_3^-), amônio livre (NH_4^+), aminoácidos livres e carboidratos solúveis totais.

A concentração de NO_3^- foi determinada pelo método colorimétrico do ácido salicílico (Cataldo *et al*., 1975). A concentração de NH_4^+ foi determinada pelo método fenol-hipoclorito (Weatherburn, 1967; Felker, 1977). Já o teor de aminoácidos livres foi determinado pelo método da ninidrina (Yemm *et al*., 1955), e os carboidratos solúveis totais foram quantificados por meio do método fenol-ácido sulfúrico, de acordo com Dubois *et al*. (1956).

2.4. Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas no software R v.4.3.0 (R Core Team, 2023). Utilizaram-se os pacotes ExpDes.pt e ARTool 0.10.5 (Kay; Wobbrock, 2016). Os testes de normalidade de Shapiro-Wilk e de homogeneidade de Bartlett foram usados para a definição dos testes mais apropriados para a detecção de variação entre os tratamentos. Satisfeito os pressupostos, prosseguiu-se com a análise de variância (ANOVA) e, quando significativo, os valores médios foram comparados pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

3. Resultados e Discussão

3.1. Germinação in vitro de *Acmella oleracea*

A germinação in vitro de *A. oleracea* foi observada no segundo dia após a inoculação das sementes, com a análise de variância mostrando diferença significativa nos parâmetros de comprimento da parte aérea e matéria fresca com o tratamento de 30 g L^{-1} de sacarose que resultou em médias de 7,60 cm e 0,18 g ($p<0,05$), respectivamente, após 4 semanas de cultivo (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores médios do comprimento da parte aérea, número de folhas, comprimento de raízes e matéria fresca de plântulas de *Acmella oleracea* submetidas a meio de cultura MS com diferentes concentrações de sacarose, após 4 semanas da germinação in vitro em câmara BOD.

Sacarose (g L^{-1})	Comprimento da parte aérea (cm)	Número de folhas	Comprimento de raízes (cm)	Matéria fresca (g)
30	7,60 ± 2,85 a	5,00 ± 2,45 b	5,77 ± 3,80 b	0,18 ± 0,14 a
20	2,80 ± 1,48 b	3,50 ± 1,91 b	5,28 ± 2,29 b	0,03 ± 0,01 b
10	3,52 ± 0,97 b	1,83 ± 1,83 b	3,33 ± 1,29 b	0,02 ± 0,01 b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Valores apresentados como média ± desvio padrão. **Fonte:** Autores (2024).

Como é possível observar na tabela 2, o aumento da concentração de sacarose no meio de cultivo pode ter favorecido o crescimento das plântulas, possivelmente devido ao papel crucial desse açúcar como fornecedor de energia metabólica e carbono para a síntese de compostos orgânicos essenciais ao desenvolvimento celular e fotossintético (Stein; Granot, 2019). Embora concentrações mais baixas de sacarose, como 10 g L^{-1} e 20 g L^{-1}, não tenham

mostrado diferenças significativas (Tabela 2), o fornecimento adequado de sacarose tem sido amplamente reconhecido como importante para o crescimento vegetativo e radicular em culturas in vitro (Pinheiro *et al*., 2018).

A sacarose, além de atuar como precursor para estruturas de carbono essenciais nos processos metabólicos, também exerce papel regulador e sinalizador nas células vegetais, influenciando o crescimento e desenvolvimento das plantas desde a germinação de sementes, expansão e alongamento celular e crescimento radicular (Shah *et al*., 2019). O presente estudo corrobora com resultados anteriores que demonstram que concentrações mais altas de sacarose favorecem o crescimento das plântulas, especialmente na fase de desenvolvimento intensificado (Almeida *et al*., 2020). Embora em algumas pesquisas a utilização de menores concentrações de açúcares tenha proporcionado bons resultados (Kulus, 2019), os achados deste estudo sugerem que a maior concentração de sacarose foi eficaz no desenvolvimento das características vegetativas de *A. oleracea* (Tabela 2), destacando sua importância na otimização das condições de cultivo in vitro.

3.2. Micropropagação in vitro de *Acmella oleracea*

3.2.1. Influência de diferentes concentrações de nitrato de amônio nos parâmetros biométricos

O tratamento T1, composto por meio MS básico, apresentou sintomas de toxidez nas plântulas micropropagadas, incluindo folhas retorcidas, amareladas e pequenas, além de redução no comprimento das raízes e formação de calos (Figura 1). Esses sinais são indicativos de toxicidade, provavelmente decorrente do excesso de 6-benzilaminopurina (BAP).

Alguns relatos apontam esses sintomas causados por um desequilíbrio hormonal dessa citocinina quando aplicada em concentrações elevadas (Oliveira; Freire; Aloufa, 2019; Corpes; Santos, 2021). Resultados semelhantes foram observados em estudos com *A. oleracea*, nos quais a ausência de BAP favoreceu o crescimento da parte aérea e o desenvolvimento de raízes adventícias (Almeida *et al*., 2020).

Figura 1 – Plântulas de *Acmella oleracea* após 4 semanas da micropropagação in vitro em meio de cultura MS com diferentes concentrações de nitrato de amônio. T1 - meio MS básico, T2 - MS modificado com metade da concentração de nitrato de amônio (½ NH_4NO_3) e T3 MS modificado com o dobro da concentração de NH_4NO_3 (2x NH_4NO_3).



Fonte: Autores (2024).

Na figura 1, observa-se que nos tratamentos T1 e T3 houve a formação de calos na base dos explantes, o que comprometeu o processo de enraizamento das plântulas. Esse fenômeno é consistente com os efeitos observados em outros estudos de micropropagação, onde a aplicação de BAP em altas concentrações resultou na inibição do alongamento e da ramificação das raízes, respectivamente (Gonçalves *et al.*, 2020).

O uso de citocininas exógenas, como o BAP, promove a multiplicação de brotos, mas, quando em excesso, pode induzir efeitos adversos, como o encurtamento dos entrenós e a redução do tamanho das plântulas, caracterizando sinais de toxicidade (Toledo; Biasi, 2018). Ademais, observou-se diferença significativa para a variável crescimento da parte aérea das plântulas apenas no tratamento T2, obtendo média de 3 cm (Tabela 3).

Tabela 3 – Médias do comprimento da parte aérea (CPA), número de folhas, número de brotos, comprimento da maior raiz (CMR) e matéria fresca de plântulas (MFP) de *Acmella oleracea* submetidas a meio de cultura MS com diferentes concentrações de nitrato de amônio (NH_4NO_3), após 4 semanas da micropropagação in vitro.

Tratamentos	Parâmetros biométricos				
	CPA (cm)	Nº de folhas	Nº de brotos	CMR (cm)	MFP (g)
T1 - MS básico	0,50 ± 0,10 b	8,67 ± 3,21 a	2,00 ± 1,00 a	1,33 ± 2,31 a	0,54 ± 0,33 a
T2 - MS + ½ NH_4NO_3	3,00 ± 0,50 a	9,00 ± 1,00 a	3,67 ± 2,08 a	2,13 ± 0,47 a	1,80 ± 1,17 a
T3 - MS + 2x NH_4NO_3	2,10 ± 1,01 b	7,67 ± 4,51 a	0,67 ± 1,15 a	0,97 ± 1,34 a	0,27 ± 0,08 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Valores apresentados como média ± desvio padrão. **Fonte:** Autores (2024).

Os resultados satisfatórios dessa variável expostos para este tratamento, em relação aos demais, apesar de contraintuitiva, é um lembrete de que a absorção de nitrogênio em plantas possui um grande preço energético. A assimilação tanto de nitrato quanto de amônio são alguns dos processos mais energeticamente custosos para as plantas, demandando mais de 25% da energia total na parte aérea e nas raízes (Moraes *et al*., 2023). E nesse caso, a maior disponibilidade e assimilação de N, representaram um maior gasto energético, o que pode ter prejudicado o crescimento das plantas dos tratamentos com maiores concentrações do mesmo.

3.2.2. Influência de diferentes concentrações de nitrato de amônio no metabolismo do nitrogênio

O metabolismo do nitrogênio em plantas superiores é uma das vias metabólicas de maior importância após a fotossíntese e respiração celular, sendo a responsável pela incorporação de nitrogênio em esqueletos de carbono para a formação de aminoácidos (Kerbauy, 2019).

O aumento do fornecimento de N, através do meio de cultura, promoveu o aumento de 26,52% e 150,68% nas concentrações de nitrato e amônio entre o T2 e T3, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4 – Quantificação dos teores de nitrato (NO_3^-), amônio livre (NH_4^+), aminoácidos livres e carboidratos solúveis totais de plântulas de *Acmella oleracea* submetidas a meio de cultura MS com diferentes concentrações de nitrato de amônio (NH_4NO_3), após 4 semanas da micropropagação in vitro.

Tratamentos	Parâmetros bioquímicos			
	NO_3^- (mg/g peso seco)	NH_4^+ (mg/g peso seco)	Aminoácidos livres (µmol/g de peso seco)	Carboidratos (mg/g peso seco)
T1 – MS básico	12,90 ± 0,03 a	0,91 ± 0,01 b	0,18 ± 0,01 b	32,35 ± 2,31 b
T2 - MS + ½ NH_4NO_3	11,65 ± 0,06 a	0,73 ± 0,07 c	0,17 ± 0,03 b	44,11 ± 2,47 a
T3 - MS + 2x NH_4NO_3	14,74 ± 0,12 a	1,83 ± 0,08 a	0,33 ± 0,05 a	34,98 ± 1,82 b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Valores apresentados como média ± desvio padrão. **Fonte:** Autores (2024).

Como é demonstrado na tabela 4, a maior concentração dos íons nitrogenados nos tecidos foliares refletiu também nas concentrações de aminoácidos livres, onde houve um aumento de 94,12% entre T2 e T3. A absorção e assimilação desses íons ocorre de forma diferente, o amônio, assim que absorvido é imediatamente assimilado em aminoácido por conta de sua toxidez, enquanto o nitrato pode ser armazenado nos vacúolos, translocado para outros tecidos, ou reduzido à amônio para posterior incorporação em aminoácidos (Liu; Hu; Chu, 2022). Logo, o maior fornecimento tanto de nitrato quanto de amônio na forma do sal NH_4NO_3 promoveu o aumento da concentração dos intermediários do metabolismo do nitrogênio.

Por outro lado, o decréscimo de 20,70% nas concentrações de carboidratos solúveis totais entre T2 e T3, indica uma resposta negativa ao aumento das concentrações de NH_4NO_3 (Tabela 4). Juntamente a isso, observou-se também um decréscimo para o comprimento da parte aérea das plântulas no tratamento T3 (Tabela 3) com o aumento da concentração de nitrato de amônio. Isso pode ser justificado por um efeito compensatório nas plântulas causado pelo aumento da concentração de NH_4NO_3 direcionado a síntese de aminoácidos e proteínas, limitando a alocação dos nutrientes para a produção de carboidratos e consequentemente para o crescimento das plântulas (Song; Yang; Jeong, 2021).

A assimilação de N, tanto na forma de NH_4^+ quanto NO_3^- é energeticamente custoso às plantas, tendo em vista que a redução do NO_3^- à NH_4^+ é necessária para a formação de aminoácidos, e esse processo demanda grandes quantidades de poderes redutores (Fernandes; Souza; Santos, 2018). As reações de redução do NO_3^- à NH_4^+ são catalisadas pela ação em sequência de duas

enzimas, a nitrato redutase e nitrito redutase com o consumo de NADPH e seis ferredoxinas reduzidas (Liu; Hu; Chu, 2022).

A assimilação de NH_4^+ em aminoácidos também demanda grande quantidade de energia e poderes redutores na forma de ATP, NADH ou ferredoxina reduzida (Fernandes; Souza; Santos, 2018). Bem como também necessitam de esqueletos de carbono derivados do ciclo do ácido cítrico como o 2-oxoglutarato para a formação de aminoácidos. Isso pode causar a redução da produção de energia via ciclo do ácido cítrico nessas plantas, visto que, quanto maior a concentração de nitrato de amônio no meio, maior a concentração de aminoácidos solúveis totais, e maior a necessidade de energia para formá-los, como observado nos dados obtidos (Tabela 4) (Lameira *et al*., 2020).

4. Conclusão

Os resultados do presente estudo mostraram que houve significância com o aumento de sacarose (30 g L^{-1}) no meio de cultivo para a germinação in vitro de *Acmella oleracea*. Também demonstrou que o uso da concentração 0,4 mg L^{-1} de 6-benzilaminopurina (BAP) pode ter causado fitotoxidade em plântulas de *A. oleracea* micropropagadas in vitro.

Ademais, constatou-se que o aumento das concentrações de nitrato de amônio promoveu a assimilação de nitrogênio e a formação de aminoácidos solúveis, mas impôs uma alta demanda energética. Esse gasto excessivo de energia comprometeu o metabolismo do carbono, ocasionando uma redução de energia disponível para a síntese de carboidratos essenciais ao crescimento. Como resultado, observou-se uma limitação no desenvolvimento das plântulas com o aumento da concentração de nitrato de amônio.

5. Referências

AKTAR, Asma *et al*. Pharmacological and phytochemical review of *Acmella oleracea*: a comprehensive analysis of its therapeutic potential. **Discover Applied Sciences**, *[S. l.]*, v. 6, n. 412, 2024.

ALMEIDA, Susan P. *et al*. *In vitro* culture of jambu with different growth regulators. **Horticultura Brasileira**, *[S. l.]*, v. 38, n. 2, p. 134-138, 2020.

CASSIM, Bruno Maia A. R. *et al*. Nitrogen: from discovery, plant assimilation, sustainable usage to current enhanced efficiency fertilizers technologies – A review.

Revista Brasileira de Ciência do Solo, *[S. l.]*, v. 48, e0230037, 2024.

CATALDO, D. A. *et al*. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.6, p.71-80, 1975.

CORPES, Rosana S.; SANTOS, Alberdan S. Influência dos reguladores de crescimento 2,4-D e BAP associados aos agentes solidificantes ágar e phytagel na indução de calos de *Crinum americanum* L. (Amaryllidaceae). **Research, Society and Development**, *[S. l.]*, v. 10, n. 12, e299101220378, 2021.

DUBOIS, M. *et al*. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Anal. Chem**., v. 28, p. 350–356, 1956.

FELKER, P. Microdetermination of nitrogen in seed protein extracts with the Salicylate-Dichloroisocyanurate color reaction. **Anal. Chem**., v. 49, p. 1080. 1977.

FERNANDES, Manlio S.; SOUZA, Sonia R.; SANTOS, Leandro A. **Nutrição mineral de plantas**. 2. ed. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2018.

FERREIRA, Silvia M. M. *et al*. Jambu varieties performance under shading screens. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 68, n. 5, p. 390-395, 2021.

GONÇALVES, Mayra J. *et al*. Rápida produção de mudas de pitaia (*Hylocereus undatus*, Cactaceae) por meio da técnica da micropropagação. **Acta Biológica Catarinense**, v. 7, n. 1, p. 75-81, 2020.

GUIMARÃES, Ana Clara B. *et al*. Potencial terapêutico do espilantol na *Acmella oleracea* (jambu): uma revisão da literatura. **Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro**, *[S. l.]*, v. 13, p. 1-7, 2023.

KAY, Matthew; WOBBROCK, Jacob O. **Package 'ARTool'**. CRAN Repository, p. 1-13, 2016. Disponível em: <https://www.scirp.org/pdf/AM_2014110516415463.pdf> Acesso em: 28 nov., 2024.

KERBAUY, Gilberto Barbante. **Fisiologia Vegetal**. 3 ed. Porto Alegre: Guanabara Koogan**,** 2019.

KULUS, Dariusz. Application of synthetic seeds in propagation, storage, and preservation of Asteraceae plant species. *In:* FAISAL, M.; ALATAR, A. **Synthetic Seeds**. 1. ed. Springer: Cham, 2019.

LAMEIRA, Osmar A.; RODRIGUES, Simone M.; SOUZA, Isis N. G.; CAMPELO, Meiciane F.; MOREIRA, Ruanny K. V. P. P.; SILVA, Ana C. B.; SANTOS, Mila C. A.; RAMIRES, Allan C. S. Efeitos de diferentes concentrações de nitrato de amônio e nitrato de potássio na micropropagação de *Physalis angulata* L. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 11, p. 85090-85097, 2020.

LI, Huayi. **Nutrients translocation & plant growth in tissue culture**. Wageningen:

Wageningen University & Research**,** 2020.

LIU, Xiujie; HU, Bin; CHU, Chengcai. Nitrogen assimilation in plants: current status and future prospects. **Journal of Genetics and Genomics**, v. 49, n. 5, p. 394-404, 2022.

MORAES, Francielle Kern *et al*. Morfogênese *in vitro* de plântulas de *Cattleya intermedia* Graham ex Hook (Orchidaceae) em diferentes concentrações de meio de cultura basal. **Research, Society and Development**, *[S. l.]*, v. 12, n. 11, e48121143650, 2023.

MURASHIGE, T; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.

OLIVEIRA, Kívia S.; FREIRE, Fúlvio A. M.; ALOUFA, Magdi A. I. Influência de reguladores de crescimento e do tipo de explante na morfogênese *in vitro* de *Hancornia speciosa* Gomes. **Revista Desafios**, Palmas, v. 6, n. 4, p. 60-74, 2019.

PINHEIRO, Marcos V. M. *et al*. Modificações no meio de cultura, fotoperíodo e tempo de cultivo afetam o alongamento e enraizamento in vitro de bananeira cv. Pacovan. **Nativa**, Sinop, v. 6, n. 1, p. 27-32, 2018.

PRITI, Savant B.; MANJUSHA, Kareppa S. A systemetic and scientific review on the Acmella oleracea and its traditional medical and pharmacological uses. **Asian Journal of Pharmaceutical Research**, *[S. l.]*, v. 12, n. 1, p. 71-75, 2022.

R CORE TEAM. **R:** A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2023. Disponível em: <https://www.Rproject.org/> Acesso em: 28 nov., 2024.

RELVAS, Rikelme M. S. *et al*. Aspectos agronômicos, uso e importância do jambu (*Acmella oleracea* L.): uma revisão. **Scientific Electronic Archives**, *[S. l.],* v.17, n.6, 2024.

SHAH, Durdana *et al*. Sugar regulates plant growth and development under in vitro conditions. *In:* KHAN, M. I. R. *et al*. **Plant Signaling Molecules**. 1. ed. Elsevier: Woodhead Publishing, p. 257-268, 2018.

SILVA, Andressa O. *et al*. Effect of shading and growing season on the agronomic performance of jambu. **Pesq. Agropec. Trop.,** Goiânia, v. 53, e77257, 2023.

SONG, Jinnan; YANG, Jingli; JEONG, Byoung Ryong. Growth, quality, and nitrogen assimilation in response to high ammonium or nitrate supply in cabbage (*Brassica campestris* L.) and lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Agronomy**, v. 11, n. 12, p. 2556, 2021.

STEIN, Ofer; GRANOT, David. An overview of sucrose synthases in plants. **Frontiers in Plant Science**, *[S. l.]*, v. 10, n. 95, 2019.

TOLEDO, Jacks A.; BIASI, Luiz A. Multiplicação e enraizamento *in vitro* da amoreira

preta cv. xavante. **Cultura Agronômica**, Ilha Solteira, v. 27, n. 3, p. 328-339, 2018.

WEATHERBURN, M. W. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. **Anal. Chem.**, v. 39, p. 971–974, 1967.

YEMM, E. W. *et al*. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, p. 209–214, 1955.