

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ATRIBUTOS BIOQUÍMICOS E BIOMÉTRICOS EM HÍBRIDOS DE  
MILHO EM RESPOSTA A DOSES DE NITROGÊNIO**

**Helen Cristina de Arruda Rodrigues**

Engenheira Agrônoma

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Maio de 2012

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ATRIBUTOS BIOQUÍMICOS E BIOMÉTRICOS EM HÍBRIDOS DE  
MILHO EM RESPOSTA A DOSES DE NITROGÊNIO**

**Helen Cristina de Arruda Rodrigues**

**Orientador: Prof. Dr. Jairo Osvaldo Cazetta**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Produção Vegetal).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Maio de 2012

R696a Rodrigues, Helen Cristina de  
Atributos bioquímicos e biométricos em híbridos de milho em  
resposta a doses de nitrogênio / Helen Cristina de Arruda Rodrigues.  
-- Jaboticabal, 2012  
viii, 80 f. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de  
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2012  
Orientador: Jairo Osvaldo Cazetta  
Banca examinadora: José Lavres Junior, Felipe Campos  
Figueiredo, Domingos Fornasieri Filho, Wanderley José de Melo  
Bibliografia

1. *Zea mays* L. ssp. *mays*. 2. Teor de nitrogênio. 3. Redutase do  
nitrato. 4. Acúmulo de nitrogênio. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade  
de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 633.15:631.84

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Campus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

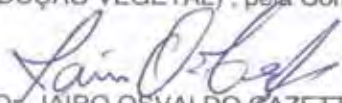
### CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

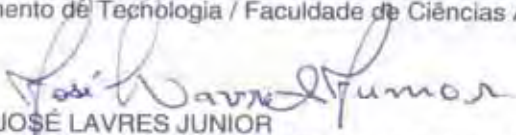
**TÍTULO:** ATRIBUTOS BIOQUÍMICOS E BIOMÉTRICOS EM HÍBRIDOS DE MILHO EM RESPOSTA A DOSES DE NITROGÊNIO

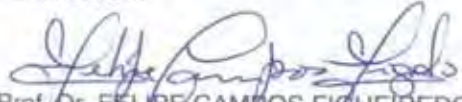
**AUTORA:** HELEN CRISTINA DE ARRUDA RODRIGUES

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. JAIRO OSVALDO CAZETTA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:

  
Prof. Dr. JAIRO OSVALDO CAZETTA  
Departamento de Tecnologia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

  
Prof. Dr. JOSÉ LAVRES JUNIOR  
Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas / Centro de Energia Nuclear Na Agricultura - USP / Piracicaba/SP

  
Prof. Dr. FELIPE CAMPOS FIGUEIREDO  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais / Muzambinho/MG

  
Prof. Dr. DOMINGOS FORNASIERI FILHO  
Departamento de Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

  
Prof. Dr. WANDERLEY JOSE DE MELO  
Departamento de Tecnologia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Data da realização: 28 de maio de 2012.

## DADOS CURRICULARES DO AUTOR

**HELEN CRISTINA DE ARRUDA RODRIGUES** – Nascida em Viçosa – MG em 28 de janeiro de 1981, graduou-se Engenheira Agrônoma em fevereiro de 2007 na Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG. Durante o curso de graduação realizou alguns estágios e participou de diversos eventos, bolsista de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq) por dois anos, dentre outras atividades realizadas. Em março de 2007 iniciou o Mestrado em Agronomia (Fitotecnia) na mesma instituição. Durante o mestrado foi bolsista da Capes. Realizou diversas atividades, como estágio docência na disciplina de Métodos de Melhoramento de Plantas para a turma de Agronomia, participou de simpósios, congressos e workshop, ainda, obtendo o título de Mestre em fevereiro de 2009. Em março de 2009 iniciou o curso de doutorado (Agronomia/Produção Vegetal) na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal-SP, sendo bolsista Capes. Dentre as atividades realizadas estão: estágio docência na disciplina de Química Geral (Agronomia), participação em simpósios e congressos e condução de diversos experimentos. Em maio de 2012 obteve o título de Doutora.

***Pra não dizer que não falei das flores***

*Caminhando e cantando, e seguindo a canção  
Somos todos iguais braços dados ou não  
Nas escolas, nas ruas, campos, construções  
Caminhando e cantando, e seguindo a canção*

*Vem, vamos embora que esperar não é saber  
Quem sabe faz a hora não espera acontecer*

*Pelos campos há fome em grandes plantações  
Pelas ruas marchando indecisos cordões  
Ainda fazem da flor seu mais forte refrão  
E acreditam nas flores vencendo o canhão*

*Vem, vamos embora que esperar não é saber  
Quem sabe faz a hora não espera acontecer*

*Há soldados armados, amados ou não  
Quase todos perdidos de armas na mão  
Nos quartéis lhes ensinam uma antiga lição:  
De morrer pela pátria e viver sem razão*

*Vem, vamos embora que esperar não é saber  
Quem sabe faz a hora não espera acontecer*

*Nas escolas, nas ruas, campos, construções  
Somos todos soldados, armados ou não  
Caminhando e cantando e seguindo a canção  
Somos todos iguais, braços dados ou não*

*Os amores na mente, as flores no chão  
A certeza na frente, a história na mão  
Caminhando e cantando, e seguindo a canção  
Aprendendo e ensinando uma nova lição*

*Vem, vamos embora que esperar não é saber  
Quem sabe faz a hora não espera acontecer*

**Geraldo Vandré**

*Aos meus pais José Antônio e Teresinha, as minhas irmãs Giselle e Caroline e ao meu sobrinho Caio,*

**DEDICO.**

*Aos meus avós Antônio e Glória, José Marcos e Isabel*

**OFEREÇO.**

*A Deus*

**AGRADEÇO E LOUVO SEMPRE.**

## AGRADECIMENTOS

À Santíssima Trindade, por fazer tudo na minha vida possível e por sua presença constante em minha vida.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus de Jaboticabal, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Produção Vegetal pela oportunidade oferecida.

A Capes e a Fundunesp pela concessão da bolsa de doutorado e pelo auxílio financeiro ao projeto, sem os quais seria impossível a realização do projeto e do curso de doutorado.

À Empresa Agroeste sementes Monsanto do Brasil<sup>®</sup>, pela concessão das sementes de milho utilizadas nos experimentos.

Ao Prof. Dr. Jairo Osvaldo Cazetta, que durante o três anos com muita paciência e dedicação me orientou. Obrigado pela confiança, amizade, ensinamentos, atenção e apoio.

Aos membros da banca de qualificação Prof. Dr. Domingos Fornasieri Filho, Prof. Dr. Wanderley José de Melo, Prof. Dr. José Carlos Barbosa e Prof. Dr. Renato de Mello Prado e, membros da banca de defesa da tese Prof. Dr. José Lavres Junior, Prof. Dr. Felipe Campos Figueiredo, Prof. Dr. Domingos Fornasieri Filho e Prof. Dr. Wanderley José de Melo pelas valiosas contribuições, as quais melhoraram muito o trabalho.

Ao Prof. Dr. William Natale, pelo material disponibilizado para o experimento em solução nutritiva.

Ao meu namorado Henrique Antunes de Souza, pela ajuda, apoio, carinho, compreensão, paciência e companheirismo em todos os momentos.

A todos que participaram da equipe de trabalho do Laboratório de Análises Químicas e Bioquímicas de Plantas do Prof. Dr. Jairo Osvaldo Cazetta, com certeza aprendemos e crescemos juntos nestes anos de convivência.

À amiga Rafaela Josemara Barbosa Queiroz, pelos ensinamentos e paciência no início do doutorado.

Às amigas Claudia Denise da Silva e Kamilla Ortega que nos anos de doutorado, a convivência harmoniosa e solidária me ensinaram muito sobre companheirismo.

Aos amigos Terezinha Xavier, Juliana Silva, Aluísio Togoro e Carlos Leandro pelo bom convívio, discussões e auxílios.

Aos demais amigos, colegas e companheiros de pesquisa que estando presentes ou não, sempre torceram pelo meu sucesso e sempre me incentivaram.

Aos funcionários do Departamento de Tecnologia e da Fazenda, pelo auxílio e incentivo.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Muito obrigada!

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	vii
SUMMARY.....	viii
1. CAPÍTULO 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1.1. Introdução.....	1
1.2. Revisão de Literatura.....	2
1.3. Referências Bibliográficas. ....	7
2. CAPÍTULO 2. Nitrogênio na raiz e parte aérea de dois genótipos de milho cultivados em solução nutritiva.....	14
Resumo.....	14
Summary.....	15
2.1 Introdução.....	16
2.2. Material e Métodos.....	17
2.3. Resultados e Discussão.....	19
2.4. Conclusões.....	38
2.5. Referências Bibliográficas.....	38
3. CAPÍTULO 3. Avaliação do nitrogênio nas diferentes partes de plantas de genótipos de milho.....	43
Resumo.....	43
Summary.....	44
3.1. Introdução.....	45
3.2. Material e Métodos.....	46
3.3. Resultados e Discussão.....	48
3.4. Conclusões.....	62
3.5. Referências Bibliográficas.....	62
4. CAPÍTULO 4. Absorção de nitrogênio por grãos de dois genótipos de milho cultivados <i>in vitro</i> .....	67
Resumo.....	67
Summary.....	68
4.1. Introdução.....	69
4.2. Material e Métodos.....	70
4.3. Resultados e Discussão.....	72
4.4. Conclusões.....	77
4.5. Referências Bibliográficas.....	77

## ATRIBUTOS BIOQUÍMICOS E BIOMÉTRICOS EM HÍBRIDOS DE MILHO EM RESPOSTA A DOSES DE NITROGÊNIO

**RESUMO:** O estudo de aspectos químicos e bioquímicos associados ao desenvolvimento das diferentes partes das plantas permite o entendimento das reações que refletem na produção de grãos. O presente trabalho buscou avaliar dois híbridos de milho com potencial produtivo distintos, a fim de determinar as diferenças na biomassa de raízes, colmo, folhas e grãos e suas respostas bioquímico-fisiológicas. Para isso, foram montados três experimentos: O primeiro foi realizado em casa de vegetação, por 20 dias, em solução nutritiva, com quatro doses de nitrogênio e três repetições, com o intuito de estudar a diferença nas raízes e parte aérea; Um ensaio em campo, com o plantio dos mesmos híbridos, submetidos a quatro doses de N; O terceiro experimento consistiu do cultivo de grãos *in vitro*, submetidos a quatro doses de N e cinco repetições, a fim de avaliar a diferença de eficiência de absorção de N pelos grãos. No experimento I, a parte aérea das plantas apresentou as maiores diferenças entre os genótipos, comparados com a raiz. Na raiz, a atividade da redutase do nitrato foi a que proporcionou as maiores diferenças entre os híbridos; na parte aérea, houve maior acúmulo de biomassa seca para o genótipo AS1596. No experimento II, o genótipo AS1596 foi superior ao AS1522 para a atividade da redutase do nitrato, acúmulo de N nos grãos e biomassa seca do caule e grãos; houve acúmulo no teor de aminoácidos livres totais no híbrido AS1596. No experimento III, observou-se que o híbrido AS1596 possui maior capacidade de absorção de N pelos grãos, sendo mais responsivo às doses de N que o AS1522.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L. ssp. *Mays*, acúmulo de nitrogênio, redutase do nitrato, teor de nitrogênio

## **Biochemical and biometric attributes in maize hybrids in response to doses of nitrogen**

**SUMMARY:** The study of chemical and biochemical aspects associated with the development of different plant parts allows the understanding of reactions that reflect on kernels production. This study evaluated two corn hybrids with different yield potential in order to determine the differences in root biomass, stem, leaves and grains and their associated biochemical and physiological responses. Three experiments were carried out: The first was conducted in a greenhouse for 20 days with nutritive solution, with four nitrogen levels, in order to study the difference in the roots and shoots; The second essay was conducted in the field subject on four N levels; and the third experiment consisted of growing kernels *in vitro* subject to four N levels, in order to evaluate the difference in efficiency N uptake by kernels. In the first experiment, the shoots showed the greatest differences between genotypes. In the root, the activity of nitrate reductase activity provided the greatest differences among the hybrids; in the shoot, there was a greater accumulation of dry biomass for genotype AS1596. In experiment II, the genotype AS1596 was higher than AS1522 for nitrate reductase activity, N accumulation in the grain, and stem or grain dry biomass, the total free amino acid content was greatest in hybrid AS1596. In experiment III, the hybrid AS1596 has a greater capacity for N uptake being more responsive to N levels than AS1522.

**Keywords:** *Zea mays* L. ssp. *mays*, nitrogen accumulation, nitrate reductase, nitrogen content

## **CAPÍTULO 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS**

### **1.1. INTRODUÇÃO**

A cultura do milho está amplamente disseminada no Brasil em função de sua multiplicidade de usos, seja na propriedade rural ou na indústria, e à tradição de cultivo pelos agricultores (MAGALHÃES et al., 2002). É insumo fundamental para produção de vários produtos, sendo na cadeia produtiva de suínos e aves consumidos aproximadamente 70% do milho produzido no mundo e entre 70 e 80% do milho produzido no Brasil (DUARTE et al., 2007).

Dentre os nutrientes essenciais ao crescimento e desenvolvimento das plantas, destaca-se o nitrogênio. É conhecida a importância do nitrogênio quanto às suas funções no metabolismo das plantas, participando como constituinte de moléculas de proteínas, coenzimas, ácidos nucleicos, citocromos, clorofila etc., além de ser um dos nutrientes mais relevantes para o aumento da produção (FERREIRA et al. 2001). Por isso, o suprimento inadequado de N é considerado um dos principais fatores limitantes à produtividade de grãos do milho. Além disso, afeta as taxas de iniciação e expansão foliar, o tamanho final e a intensidade de senescência das folhas (BUCHANAN et al., 2000; SCHRODER et al., 2000). Entretanto, esse macronutriente é o que tem o manejo e a recomendação de adubação mais complexos (RAIJ, 2011).

As reações bioquímicas e fisiológicas em resposta ao suprimento de nitrogênio podem ser monitoradas através de alterações da atividade de determinadas enzimas, como por exemplo, a redutase do nitrato. O aumento ou redução da atividade de uma enzima em plantas submetidas a condições de estresse pode ser fator determinante da capacidade de adaptação dessas plantas. Pode-se afirmar que as alterações no metabolismo em nível enzimático (estresse em N) provocam, entre outras reações, redução no teor de proteínas (DURÃES et al., 2004).

A avaliação da capacidade de absorção e da remobilização do nitrogênio no desenvolvimento da planta fornece dados importantes para a avaliação de sua eficiência agrônoma (BORGES et al., 2006). De acordo com FERNANDES et al. (2005), os diversos híbridos e variedades requerem quantidades diferentes de nitrogênio, de acordo com seu potencial de produtividade.

MAJEROWICZ et al. (2002), sugerem a importância do estudo das características fisiológicas do sistema radicular na seleção de genótipos eficientes quanto ao uso do nitrogênio.

Em função do acima exposto há diferenças entre genótipos em relação à produtividade e à eficiência do uso de nitrogênio, mas não está esclarecido se essas diferenças entre plantas, decorrem de respostas bioquímicas e enzimáticas diferenciais entre tais plantas.

## **1.2. REVISÃO DE LITERATURA**

O nitrogênio é o nutriente absorvido em maiores quantidades pela cultura do milho e o que tem maior influência na produtividade, com inúmeras funções relevantes nas suas atividades fisiológicas (FERNANDES et al, 2005). Embora presente em grandes quantidades em solos, as quantidades de N em formas minerais são geralmente baixas. É comumente observado que em ecossistemas naturais, uma perda contínua de N ocorre não só através da sua remoção pelas plantas, mas também por lixiviação, volatilização e desnitrificação (MACHADO et al., 2001a).

A principal característica do ciclo do nitrogênio, operando no agroecossistema solo-planta-atmosfera, é a interação entre as atividades de organismos autotróficos e heterotróficos. Através da fotossíntese, os vegetais transformam a energia solar em biomassa. Quando incorporados ao solo, os resíduos vegetais são utilizados como fonte de carbono e energia pelos microrganismos heterotróficos, ocorrendo

transformação de N-orgânico para formas inorgânicas que são absorvidas pelas plantas (nitrato e amônio) (ACOSTA, 2009).

A assimilação está intimamente relacionada com as reações da fotossíntese e metabolismo de carboidratos, tanto pela necessidade de energia para redução do nitrato a amônio, como também pelo fornecimento de cadeias carbônicas necessárias para a incorporação de amônio na formação dos aminoácidos (BREDEMEIER & MUNDSTOCK, 2000; BELOW, 2002).

O  $\text{NO}_3^-$  absorvido pode ser reduzido a  $\text{NH}_4^+$ , por meio da ação das enzimas redutase do nitrato e redutase do nitrito. O  $\text{NO}_3^-$  também pode ser acumulado no vacúolo ou exportado para outras partes das plantas. O transporte para as folhas ocorre via xilema, embora a redistribuição a partir das folhas para outros órgãos ocorra predominantemente na forma de aminoácidos, via floema. Essa redistribuição é essencial para suprir os tecidos que não participam na assimilação de N (SOUZA & FERNANDES, 2006).

De acordo com os mesmos autores, o  $\text{NH}_4^+$  absorvido ou o proveniente da redução do  $\text{NO}_3^-$  é imediatamente incorporado em esqueletos de C. O N também pode ser transportado através da membrana plasmática de certas células, em outras formas (GILLISSEM et al., 2000). Na assimilação de N pelas raízes, os aminoácidos são transportados para as folhas via fluxo transpiratório pelo xilema (MARSCHNER et al., 1995).

O nitrogênio é importante no estágio inicial de desenvolvimento da planta, quando ela está com quatro folhas totalmente desdobradas ( $v_4$ ), pois essa é a fase em que o sistema radicular em desenvolvimento apresenta considerável porcentagem de pêlos absorventes e ramificações diferenciadas. Além disso, o N atua na síntese da citocinina, fundamental para o desenvolvimento do sistema radicular da plântula de milho (FORNASIERI, 2007).

Uma vez incorporado às plantas, o N-orgânico, por sua vez, encontra-se em equilíbrio dinâmico, sendo continuamente desdobradas e sintetizadas substâncias

nitrogenadas, o que permite o acúmulo e translocação de N em diferentes órgãos, dependendo da fase de desenvolvimento ou estresse em que a planta está sendo submetida (PRADO, 2008).

Segundo BORGES et al. (2006), a avaliação da capacidade de absorção e da remobilização do nitrogênio no desenvolvimento da planta fornece dados importantes para a avaliação de sua eficiência e pode ser utilizada no planejamento de uma agricultura ecológica e economicamente mais eficiente. De acordo com os mesmos autores, há estudos onde a análise das características fisiológicas, como conteúdo de nitrato e atividade de enzimas, mostrou uma variação genotípica e uma correlação positiva entre a produção e os seus componentes.

O papel das enzimas de assimilação do nitrogênio como característica indicativa da eficiência em milho ainda é polêmico. PURCINO et al. (1990) observaram que materiais com alta atividade da redutase do nitrato (RN) tendem a ser responsivos à adubação nitrogenada e eficientes no uso do N em ambientes com baixo teor deste nutriente, enquanto que materiais que só produzem bem quando adubados tendem a ter baixa atividade da RN.

Como a forma mais disponível do N nos solos tropicais é o nitrato, a redutase do nitrato localizada no citoplasma celular, é a primeira enzima envolvida na via de incorporação do nitrato, sendo considerada enzima chave na regulação do metabolismo do N, já que o nitrato absorvido pelas raízes deve ser reduzido a  $\text{NH}_4^+$  antes de ser incorporado em compostos orgânicos no sistema radicular ou na parte aérea (CAZETTA & VILLELA, 2004).

A estimativa da atividade da RN tem sido utilizada como parâmetro indicativo da resposta fisiológica de plantas submetidas a condições adversas (MEGURO & MAGALHÃES, 1982). Pois plantas com alta atividade da redutase do nitrato teriam maior capacidade de assimilar o nitrato disponível e, em consequência, maior capacidade em responder à adubação nitrogenada (VIANA & KIEHL, 2010).

Alguns estudos demonstraram que um metabólito poderia atuar como uma molécula sinalizadora e, assim, controlaria a atividade da RN. CROWFORD et al. (2000), acreditam que o aminoácido glutamina seria esse metabólito, devido à relação inversa entre a concentração de glutamina foliar e atividade da RN.

Entre as características de planta mais utilizadas como indicadores do teor de N estão o teor de nitrato no colmo, a massa de matéria seca da planta e o teor e a quantidade de N acumulada (RAMBO et al., 2004).

Existem evidências de que o colmo das plantas de milho funciona alternativamente como órgão de importação e exportação de compostos nitrogenados durante o desenvolvimento da planta e que, conforme as condições fotossintéticas, o manejo e a demanda pelos demais órgãos, boa parte dos fotossintatos necessária para o desenvolvimento dos grãos em formação pode vir do colmo e não apenas da fotossíntese corrente (SILVA, 2002).

O acúmulo de matéria seca vegetal é resultado do mecanismo fotossintético, o qual incorpora matéria orgânica na planta. Assim sendo, todo e qualquer fator que interfira na fotossíntese irá afetar o acúmulo de matéria seca. Fatores como nutrição mineral, interferem significativamente na fotossíntese (SILVA, 2005). Normalmente, o acúmulo de N na planta de milho segue tendência similar à da matéria seca, sendo que a taxa máxima de acúmulo ocorre cerca de uma semana mais tarde que a de matéria seca, quando a redução do acúmulo de N na parte aérea da planta de milho se dá por meio de perdas pelas raízes (BORGES et al., 2006).

A diferença de produção de biomassa seca entre níveis baixo e alto de N pode ser um indicativo da capacidade de híbridos de se desenvolverem normalmente em condições contrastantes desse elemento (SCHRODER et al., 2000). Pois segundo os mesmos autores, a massa de matéria seca da planta é afetada diretamente pelo teor de N disponível, que é constituinte de proteínas, enzimas, fitocromos, clorofila, e participa de uma série de reações bioquímicas no metabolismo das plantas.

Para PLÉNET & LEMAIRE (1999), a relação entre teor de N e matéria seca para indicar acúmulo de N na planta, indica o nível nutricional da cultura, em cada estágio de desenvolvimento. Por sua vez, a produção de biomassa seca (MS) da parte aérea por planta pode ser utilizada para indicar a intensidade de crescimento da planta (BORTOLINI et al., 2002).

RAMBO et al. (2008), estudando a adequação de doses de nitrogênio em milho com base em indicadores de solo e de planta, observaram que as características de planta que melhor predisseram as doses ótimas de N, a serem aplicadas em cobertura, foram: biomassa seca da planta, N acumulado na planta, o teor de N na planta. Enquanto as características, N acumulado na folha, teor de N na folha e biomassa seca da folha não apresentaram boa relação com as doses ótimas.

Para FERREIRA et al. (2008), a quantidade de nutrientes presentes nos tecidos vegetais de uma determinada espécie, em um dado momento, é função da interação das condições ambientais com o genótipo e interferem diretamente na absorção, translocação, acúmulo e utilização de nutrientes minerais pelas plantas, além de permitir a otimização do uso dos insumos.

Atualmente, a existência de uma grande variedade de cultivares de milhos comerciais oferecidas aos agricultores sugere uma possível variabilidade na eficiência quanto à utilização de nitrogênio por essas cultivares (CARVALHO et al., 2011).

HIREL et al. (2001), estudando as bases genéticas e fisiológicas na eficiência do uso de nitrogênio em milho correlacionaram a assimilação e a remobilização de nitrogênio com a produção, concluindo que o aumento da produção de grãos observado nas últimas duas décadas não foi apenas devido ao aumento na assimilação de nitrogênio, mas também devido à melhor eficiência no uso do nitrogênio como resultado de uma remobilização mais eficiente deste nutriente.

A eficiência é definida como a capacidade de determinado genótipo em adquirir o nutriente para incorporá-lo e utilizá-lo na produção de biomassa ou material vegetal de rendimento econômico (BLAIR, 1993), como os grãos, no caso específico do milho. Os

critérios ou definições de eficiência são vários e, geralmente, dividem-se entre os que enfatizam a produtividade e aqueles que enfatizam o requerimento interno do nutriente na planta (GOURLEY et al., 1994), dependente das características morfológicas, bioquímicas e fisiológicas dos vegetais (MACHADO et al., 2001b). E os genótipos de uma mesma espécie apresentam exigências nutricionais e tolerâncias diferenciadas aos nutrientes minerais (ALVES et al., 2002; ZOU et al., 2002).

De acordo com FAGERIA (1998), os componentes mais comuns da eficiência são absorção e utilização de nutrientes. Em solo com baixa fertilidade, a eficiência de utilização é mais importante em comparação com a eficiência de absorção na produção de grãos e em solo de alta fertilidade, ambas as eficiências são importantes na produção das culturas.

Segundo o mesmo autor, em experimento de campo, a produção de grãos é o melhor parâmetro para avaliação da eficiência nutricional em culturas anuais; em caso de experimento em condições controladas, tanto a produção de grãos como a produção de matéria seca podem ser usadas como parâmetro de avaliação da eficiência nutricional.

Há existência de uma grande variedade de cultivares de milho quanto à eficiência de produção em relação ao nitrogênio, porém ainda não está totalmente elucidado e permanece como um tema de grande interesse o conhecimento de onde estariam essas diferenças nas diferentes partes da planta de milho.

### **1.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ACOSTA, J. A. A. **Dinâmica do nitrogênio sob sistema plantio direto e parâmetros para o manejo da adubação nitrogenada no milho**. 2009. 199 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

ALVES, V. M. C.; PARENTONI, S. N.; VASCONCELLOS, C. A.; PITTA, G. V. E.; FRANÇA, C. C. M. Cinética de absorção de fósforo e crescimento do sistema radicular de genótipos de milho contrastantes para eficiência de fósforo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 1, p. 85-92, 2002.

BELOW, F. E. Fisiologia, nutrição e adubação nitrogenada do milho. **Informações Agrônomicas**, Piracicaba: POTAFOS, n. 99, v. 43, p. 7–12, 2002.

BLAIR, G. Nutrient efficiency what do we really mean? In: RANDALL, P.J.; DELHAITZE, E.; RICHARDS, R.A.; MUNNS, R. (Eds.). **Genetic Aspects of Plant Mineral Nutrition**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1993. p.205–213. (Developments in Plant and Soil Sciences, 50).

BORGES, E. A.; FERNANDES, M. S.; LOSS, A.; SILVA, E. E.; SOUZA, S. R. Acúmulo e remobilização de nitrogênio em variedades de milho. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 3, p. 278-286, 2006.

BORTOLINI, C. G.; SILVA, P. R. F.; ARGENTA, G.; FORSTHOFER, E. L. Sistemas de aplicação de nitrogênio e seus efeitos sobre o acúmulo de N na planta de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, n. 2, p. 361-366, 2002.

BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C.M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 365-372, 2000.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. American Society of Plant Physiologists. 2000.

CARVALHO, R. P.; VON PINHO, R. G.; DAVIDE, L. M. C. Desempenho de cultivares de milho quanto à eficiência de utilização de nitrogênio. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 10, n. 2, p. 108-120, 2011.

CAZETTA, J. O.; VILLELA, L. C. V. Atividade da redutase do nitrato em folhas e caules de 'tanner grass' (*Brachiaria radicans* Napper). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 61, n. 6, p. 640-648, 2004.

CRAWFORD, N. M.; KAHN, M. L.; LEUSTEK, LONG, S. R. Nitrogen and sulfur In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. Cap. 16, p. 786-849.

DUARTE, J. O.; CRUZ, J. C.; GARCIA, J. C.; MATTOSO, M. J. **Cultivo do Milho**. Sistemas de Produção 2, Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 3<sup>o</sup> ed., 2007. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho/economia.htm>.

DURÃES, F. O. M.; SANTOS, M. X.; GOMES.; GAMA; E. E.; MAGALHÃES, P.C.; GUIMARÃES, C. T. **Fenotipagem associada à tolerância a seca em milho para uso em melhoramento, estudos genômicos e seleção assistida por marcadores**. Sete Lagoas: MAPA/Embrapa Milho e Sorgo, 2004. 18 p. (Circular Técnica, 39).

FAGERIA, N. K. Otimização da eficiência nutricional na produção das culturas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 2, n. 1, p. 6-16, 1998.

FERNANDES, F. C. S.; BUZETTI, S.; ARF, O.; ANDRADE, J. A. C. Doses, eficiência e uso do nitrogênio por seis cultivares de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 2, p. 195-204, 2005.

FERREIRA, A. C. B.; ARAÚJO, G. A. A.; PEREIRA, P. R. G.; CARDOSO, A. A. Características agronômicas e nutricionais do milho adubado com nitrogênio, molibdênio e zinco. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 58, n. 1, p. 131-138, 2001.

FERREIRA, V. M.; MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; VASCONCELLOS, C. A.; ARAÚJO-NETO, J. C. Acúmulo e distribuição de macronutrientes em dois híbridos duplos de milho, em função da disponibilidade de água no solo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 7, n. 1, p. 1-17, 2008.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do milho**. FUNEP, Jaboticabal, 2007, 576 p.

GILLISEN, B.; BURKLE, L.; KUHN, C.; RENTSCH, D.; BRANDI, B.; FROMMER, W. B. A new family of high-affinity transporters for adenine, cytosine and purine derivatives in *Arabidopsis*. **Plant Cell**, Rockville, v. 12, n. 2, p. 291-300, 2000.

GOURLEY, C. J. P.; ALLAN, D. L.; RUSSELE, M. P. Plant nutrient efficiency: A comparison of definitions and suggested improvement. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 158, n. 1, p. 29-37, 1994.

HIREL, B.; BERTIN, P.; QUILLERÉ, I.; BOURDONCLE, W.; ATTAGNANT, C.; DELLAY, C.; GOUY, A.; CADIOU, S.; RETAILLIAU, C.; FALQUE, M. & GALLAIS, A. Towards a better understanding of the genetic and physiological basis for nitrogen use efficiency in maize. **Plant Physiology**, Rockville, v. 125, n. 3, p. 1258- 1270, 2001.

MACHADO, A. T.; SODEK, L.; FERNANDES, M. S. N-partitioning, nitrate reductase and glutamine synthetase activities in two contrasting varieties of maize. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 2, p. 249-256, 2001a.

MACHADO, C. T. T.; FURLANI, A. M. C.; MACHADO, A. T. Índices de eficiência de variedades locais e melhoradas de milho ao fósforo. **Bragantia**, Campinas, v. 60, n. 3, p. 225-238, 2001b.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; CARNEIRO, N. P.; PAIVA, E. **Fisiologia do milho**. Sete Lagoas:Embrapa, Milho e Sorgo, 2002. 23 p. (Circular Técnica, 22).

MAJEROWICZ, N.; PEREIRA, J. M. S.; MEDICI, L. O.; BISON, O.; PEREIRA, M. B.; SANTOS JUNIOR, U. M. Estudo da eficiência de uso de nitrogênio em variedades locais e melhoradas de milho. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 129-136, 2002.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2ed. New York: Academic Press, 1995. 889 p.

MEGURO, N. E.; MAGALHÃES, A. C. Atividade da redutase do nitrato em cultivares de café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 12, p. 249-257, 1982.

PLÉNET, D. & LEMAIRE, G. Relationships between dynamics of nitrogen uptake and dry matter accumulation in maize crops: determination of critical N concentration. **Plant and Soil**, v. 216, n. 1/2, p. 65-82, 1999.

PRADO, R. M. **Nutrição de Plantas**. 1.ed. São Paulo: Editora UNESP, 2008. v. 1. 300 p.

PURCINO, A. A. C., MAGNAVACA, R., MACHADO, A. T., MARRIEL, I. E.; MAGALHÃES, J. R. **Redutase do Nitrato em genótipos antigos e modernos de milho**. In: Simpósio Brasileiro sobre Nitrogênio em Plantas. 1., 1990. Rio de Janeiro.

Anais...Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1990. 1. p. 491-492.

RAIJ, B. van. **Fertilidade do solo e manejo de nutrientes**. Piracicaba: IPNI, 2011. 420 p.

RAMBO, L.; SILVA, P.R.F.; ARGENTA, G.; SANGOI, L. Parâmetros de planta para aprimorar o manejo da adubação nitrogenada de cobertura em milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p.1637-1645, 2004.

RAMBO, L.; SILVA, P. R. F.; STRIEDER, M. L.; DELATORRE, C. A.; BAYER, C.; ARGENTA, G. Adequação de doses de nitrogênio em milho com base em indicadores de solo e de planta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 3, p. 401-409, 2008.

SILVA, C. J. **Efeito de diferentes relações folhas/grãos sobre o metabolismo do nitrogênio em diferentes partes da planta de milho**. 2002. 64 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

SILVA, C. J. **Influência de estresses abióticos na fase reprodutiva do milho**. 2005. 60 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

SCHRODER, J. J. ; NEETESON, J. J. ; OENEMA, O. ; STRUIK, P. C. Does the crop or the soil indicate how to save nitrogen in maize production. Reviewing the state of art. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 68, n. 1, p. 151-164, 2000.

SOUZA, S. R. & FERNANDES, M. S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: Sociedade brasileira de Ciência do Solo, 2006. 432 p.

VIANA, E. M. & KIEHL, J. C. Doses de nitrogênio e potássio no crescimento do trigo. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 4, p. 975-982, 2010.

ZOU, C.; LI, J.; LI, Z.; ZHANG, F.; TONG, Y.; CHEN, X.; HOV, L.; WANG, X. Photosynthate distribution in wheat varieties differing in phosphorus efficiency. **Communication of Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 33, n. 19/20, p. 3767-3777, 2002.

## **CAPÍTULO 2: NITROGÊNIO NA RAIZ E PARTE AÉREA DE DOIS GENÓTIPOS DE MILHO CULTIVADOS EM SOLUÇÃO NUTRITIVA**

**RESUMO:** O estudo de aspectos químicos e bioquímicos associados ao desenvolvimento das diferentes partes das plantas permite a observação e o entendimento de uma série de reações que levam à produção de biomassa e grãos pela cultura. Assim, objetivou-se avaliar as respostas bioquímico-fisiológicas nas raízes e parte aérea em dois genótipos de milho na fase inicial de crescimento da planta, quando as plantas são submetidas a distintas doses de N em condições hidropônicas. O experimento foi realizado em casa de vegetação, com dois híbridos (AS1522 e AS1596) submetidos a quatro concentrações de N (0, 112, 224 e 448 mg dm<sup>-3</sup>) em solução nutritiva por 20 dias. O delineamento utilizado foi em blocos casualizados com três repetições. Foi possível concluir que as maiores diferenças entre os genótipos estudados para as variáveis biométricas, biomassa seca, acúmulo de N e aminoácidos livres totais foram observadas na parte aérea das plantas. Na raiz, a atividade da redutase do nitrato foi a variável que proporcionou as maiores diferenças entre genótipos. Na parte aérea, houve maior acúmulo de massa de matéria seca para o híbrido AS1596. Para os ganhos em relação à testemunha constatam-se que os maiores ganhos estiveram associados ao genótipo AS1596. Ambos apresentaram os melhores desempenhos aproximadamente na mesma concentração de N para comprimento radicular, acúmulo de N na parte aérea e atividade da redutase do nitrato na raiz.

**Palavras-chaves:** Atividade enzimática, estado nutricional, hidroponia, *Zea mays*

## **Nitrogen in the root and shoot of two maize genotypes growing on nutritive solution**

**SUMMARY:** The study of chemical and biochemical aspects associated with the development of different plant parts enables the observation of a series of reactions leading to the production of biomass and grains. Thus, the objective of this work was to assess the biochemical and physiological responses of roots and shoots of two corn genotypes in the early stages of plant growth, when plants are subjected to different nitrogen levels in hydroponic conditions. The experiment was conducted under greenhouse conditions with two hybrids (AS1522 and AS1596) subjected to four N concentrations (0, 112, 224 and 448 mg dm<sup>-3</sup>) in nutrient solution for 20 days. The experimental design was randomized blocks with three replications. It was concluded that the greatest differences among genotypes for biometric variables, biomass, N accumulation and free amino acids were observed in the shoots. In the root, the activity of nitrate reductase was greater in the genotype. In shoot, there was a greater accumulation of dry matter for hybrid AS1596. For gains over the control note that the largest gains were associated with genotype AS1596. Both showed the best results in approximately the same concentration of N for root length, N accumulation in shoots and nitrate reductase activity in the root.

**Keywords:** Enzyme activity, nutritional status, hydroponics, *Zea mays*

## 2.1. INTRODUÇÃO

As culturas são afetadas diretamente pela eficiência nutricional, que indica a capacidade da planta em absorver nutrientes do meio de cultivo. Para o milho, a deficiência de N promove menor eficiência nutricional (GONDIM et al., 2010). Sabe-se que os mecanismos que governam a eficiência de absorção, que indica a capacidade da planta em converter o nutriente absorvido em matéria seca, diferem em função de vários fatores, entre eles: genótipos, profundidade do sistema radicular e disponibilidade de nutrientes (FAGERIA, 1998).

Embora se saiba que plantas submetidas a crescentes doses de adubação nitrogenada tendem a ter melhor crescimento e desenvolvimento, que refletem na produtividade, os eventos químicos e bioquímicos relacionados ao metabolismo e desempenho de distintos genótipos ainda não estão muito bem esclarecidos (PURCINO et al., 1994; CASAGRANDE & FORNASIERI FILHO, 2002; SANTOS et al., 2010). Com isso, a compreensão de tais fenômenos é de extrema importância para os fisiologistas envolvidos com a cultura do milho.

A avaliação da capacidade de absorção e da remobilização do nitrogênio no desenvolvimento da planta também fornece dados importantes para a avaliação da eficiência agrônômica desse nutriente (BORGES et al., 2006).

O cultivo de plantas em vasos, utilizando solução nutritiva, é uma ferramenta útil para estudar detalhes da nutrição mineral e a resposta de distintos genótipos (GONDIM et al., 2010; FAGERIA, 1998), pois possibilita simular situações desde deficiência até excesso de um ou mais nutrientes, além de permitir a recuperação total do sistema radicular para sua adequada avaliação, o que seria praticamente impossível nas condições de campo.

É consenso que existem diferenças entre genótipos em relação à produção e provavelmente à eficiência do uso de nitrogênio, mas não está bem esclarecido se essas diferenças independem das partes da planta ou se alguns órgãos são mais

determinantes que outros na eficiência de uso do N. Também são poucos os trabalhos que determinam quais são os processos fisiológicos preponderantes nos órgãos mais e nos menos eficientes. Assim, objetivou-se avaliar as respostas bioquímico-fisiológicas nas raízes e parte aérea em dois genótipos de milho na fase inicial de crescimento da planta, quando as plantas são submetidas a distintas doses de N em condições hidropônicas.

## 2.2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em condições de casa de vegetação no Departamento de Tecnologia da FCAV/Unesp, Jaboticabal - SP. As sementes foram germinadas em areia e as plântulas transferidas para a solução hidropônica aos quinze dias após emergência ( $V_2$ ). Cada unidade experimental foi composta por um vaso de polietileno, encapado com papel alumínio com capacidade de  $6 \text{ dm}^3$ , mantendo-se duas plantas de milho, em  $5,8 \text{ dm}^3$  de solução nutritiva de HOAGLAND & ARNON (1950) modificada (EPSTEIN & BLOOM, 2006), diluída (50% da concentração usual) durante os primeiros 7 dias e, após esse período, aumentou-se para 100%. Por se ter observado sintomas iniciais de deficiência de Fe, foi realizada adição de  $15 \text{ mL dm}^{-3}$  da solução de Fe-EDTA ( $80 \text{ mmol dm}^{-3}$ ) nos primeiros sete dias e de  $30 \text{ mL dm}^{-3}$  desta solução, no restante do tempo do experimento (28 dias).

O volume de solução nutritiva, mantida sob aeração forçada e renovada a cada 5 dias, foi diariamente recomposto com água desionizada, sendo o valor do pH monitorado diariamente e ajustado a  $5,1 \pm 0,1$ , utilizando-se solução de NaOH ou HCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , quando necessário.

Após o cultivo das plantas por 15 dias (7 com solução diluída e 8 com solução completa, foram impostos os tratamentos.

As plantas foram submetidas a oito tratamentos, compostos pela combinação dos dois genótipos com quatro concentrações de N na solução nutritiva em um fatorial

2x4 com oito plantas por parcela. Os genótipos utilizados foram os híbridos simples AS1522 e AS1596, obtidos junto à Agroeste Sementes da Monsanto do Brasil®. Ambos genótipos apresentam produtividade distintas de acordo com a própria empresa. O AS1522 preconizado como de menor potencial produtivo e AS1596 como o de maior potencial produtivo. As concentrações de N utilizadas foram: 0 (controle), 112, 224 e 448 mg dm<sup>-3</sup>, sendo o nitrato de amônio a fonte de N. Salienta-se que a dose de 224 mg dm<sup>-3</sup> é a originalmente proposta por EPSTEIN & BLOOM (2006). As plantas foram mantidas nestas condições por 20 dias, quando as plantas do tratamento testemunha começaram a apresentar sintomas iniciais de deficiência de N. A partir daí, as plantas foram avaliadas (estádio V<sub>8</sub>) quanto a: altura (medida desde o colo da planta até a ponta da última folha, quando distendida), diâmetro (determinado 8 cm acima do colo da planta), comprimento de raiz (medida desde o colo até a ponta da raiz mais comprida quando distendida), atividade *in vivo* da enzima redutase do nitrato (folhas e raízes), biomassa seca, teor de N total, teor de aminoácidos livres totais, acúmulo de N, eficiência de absorção e eficiência de utilização de N das partes, raízes e aérea respectivamente.

Para a avaliação da altura das mudas e comprimento de raiz, foi utilizada uma régua graduada, para diâmetro, um paquímetro, e para obtenção da biomassa seca, tanto da raiz quanto da parte aérea, essas partes foram identificadas e levadas para estufa com circulação forçada de ar a 60 °C até peso constante. Após esse período, as plantas foram pesadas e moídas para realização das análises químicas.

A atividade da redutase do nitrato foi determinada de acordo com o método *in vivo* descrito por JAWORSKI (1971) adaptado por CAZETTA (1997), em que para as folhas utilizou-se 20 discos foliares e para as raízes, foi pesado 1 g do material. A determinação do teor de nitrogênio total foi determinado através do método de kjeldahl (BATAGLIA et al., 1993) e a do teor de aminoácidos livres totais de acordo com MOORE (1968), usando como padrão leucina. Depois de coletada as plantas, essas foram separadas em partes, identificadas e levadas para secagem em estufa de

circulação forçada de ar (60 °C) até peso constante. Secas, foram pesadas e moídas em um moinho.

Para obtenção do acúmulo de N, foi multiplicado o teor de N total de cada parte pela biomassa seca dessa parte. A eficiência de absorção foi calculada conforme SWIADER et al. (1994) e a eficiência de utilização segundo SIDDIQUI & GLASS (1981).

Os dados foram analisados através de teste F e, quando significativos ( $p \leq 0,05$ ), foi realizado teste de comparação de médias (teste de Tukey a 5%) para o fator qualitativo (híbridos) e análise de regressão linear e polinomial para o fator quantitativo (doses) (BANZATTO & KRONKA, 2006). Os dados foram analisados com auxílio do software SISVAR (FERREIRA, 2008).

### **2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Observou-se efeito significativo ( $p \leq 0,05$ ) para a interação genótipo x doses para a maioria das variáveis, exceto para diâmetro do colmo e atividade da redutase do nitrato para a parte aérea das plantas (Tabela 1).

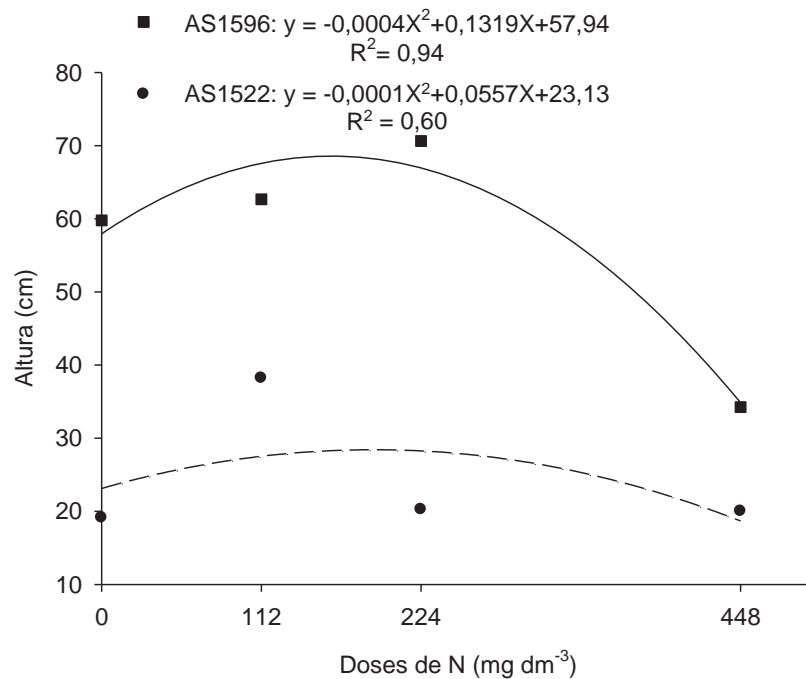
**Tabela 1.** Resumo da análise de variância para as variáveis em função dos genótipos e doses de nitrogênio de milho em solução nutritiva

Causas de variação	Alt (cm)	Dia (cm)	CR (cm)	BSR (g vaso <sup>-1</sup> )	BSPA (g vaso <sup>-1</sup> )	NTR (g kg <sup>-1</sup> )	NTPA (g kg <sup>-1</sup> )	ANR (mg vaso <sup>-1</sup> )
-----Teste de F-----								
Genótipos (G)	175,98**	339,30**	42,97**	106,96**	216,04**	9,24**	38,55**	114,81**
Doses (D)	18,65**	9,55**	16,40**	9,50**	24,54**	126,36**	234,41**	15,82**
G x D	9,97**	3,14 <sup>NS</sup>	4,07*	4,56*	5,02*	5,43*	23,55**	7,21**
C.V. (%)	14,30	11,10	15,60	23,00	11,60	5,90	3,90	26,31
	ANPA (mg vaso <sup>-1</sup> )	RNR ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ hora <sup>-1</sup> de N-NO <sub>2</sub> )	RNPA ( $\mu\text{mol m}^{-2}$ hora <sup>-1</sup> de N-NO <sub>2</sub> )	ALR ( $\mu\text{mol kg}^{-1}$ N- aminoácido)	ALPA ( $\mu\text{mol kg}^{-1}$ N- aminoácido)	EA mg g MSR <sup>-1</sup>	EU g <sup>2</sup> mg N <sup>-1</sup> MST	
-----Teste de F-----								
Genótipos (G)	258,41**	401,52**	88,69**	2,87**	1,18 <sup>NS</sup>	52,45*	120,63*	
Doses (D)	45,15**	968,39**	14,07**	7,19**	16,92**	33,81*	23,81*	
G x D	13,40**	249,20**	3,00 <sup>NS</sup>	6,08**	6,69**	14,18*	5,76*	
C.V. (%)	9,58	4,80	12,60	8,90	15,10	18,30	17,90	

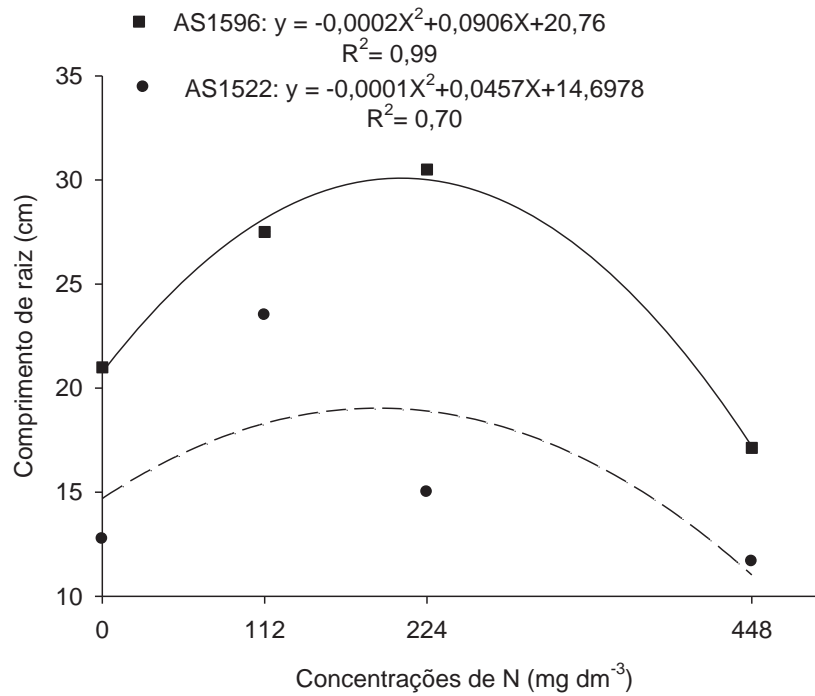
\* e <sup>NS</sup> – Significativo e não significativo a 5%, respectivamente. \*\* - Significativo a 1%.

(Alt) Altura; (Dia) diâmetro; (CR) comprimento de raiz; (BSR) biomassa seca de raiz; (BSPA) biomassa seca da parte aérea; (NTR) teor de nitrogênio total da raiz; (NTPA) teor de nitrogênio total da parte aérea; (ANR) acúmulo de nitrogênio na raiz; (ANPA) acúmulo de nitrogênio na parte aérea; (RNR) atividade da redutase do nitrato na raiz; (RNPA) atividade da redutase do nitrato nas folhas; (ALR) teor de aminoácidos livres totais de raiz; (ALPA) teor de aminoácidos livres totais da parte aérea; (EA) eficiência de absorção e (EU) eficiência de utilização.

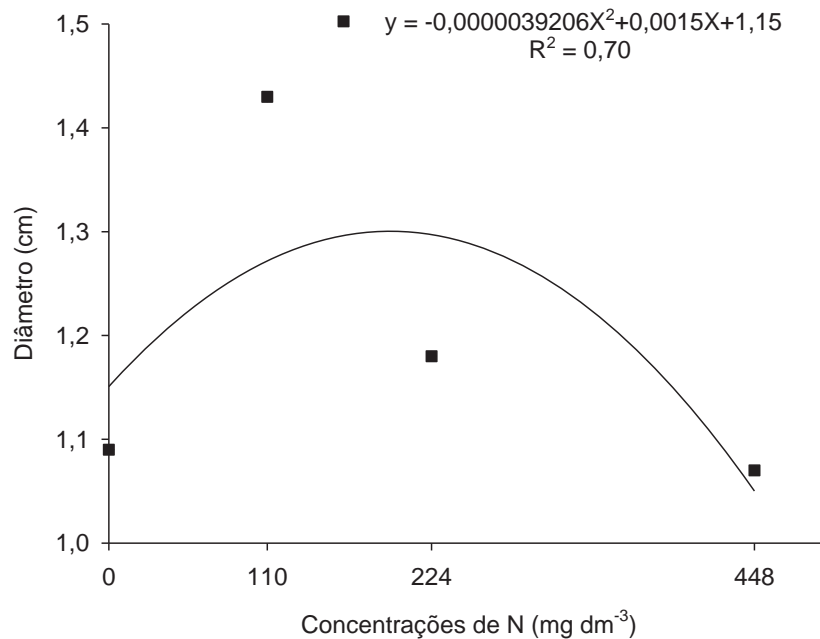
As concentrações de N que proporcionaram maior altura e comprimento de raiz para as plantas AS1522 foram 278,50 e 228,50 mg dm<sup>-3</sup> de N (Figuras 1 e 2), proporcionando aumentos de 33 e 35%, respectivamente, quando comparados com o controle. Para altura e comprimento de raiz, as doses que proporcionaram maiores valores para o genótipo AS1596 foram 164,88 e 226,50 mg dm<sup>-3</sup> de N correspondendo a aumentos de 18 e 49%, respectivamente, em relação ao controle (dose 0) (Figuras 1 e 2). Para diâmetro do colmo, a concentração que promoveu máximo valor foi de 191,30 mg dm<sup>-3</sup> N (Figura 3) e o aumento obtido com a dose em questão em relação ao tratamento testemunha (dose 0) foi de 12%.



**Figura 1.** Altura média de plantas de híbridos de milho em função das concentrações de N na solução nutritiva.



**Figura 2.** Comprimento médio de raiz de híbridos de milho em função das concentrações de N na solução nutritiva.



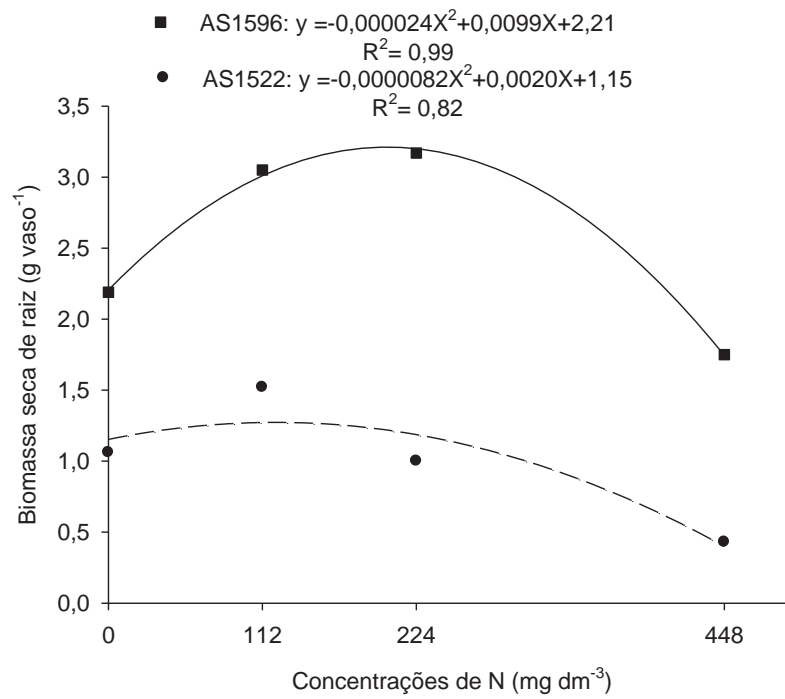
**Figura 3.** Diâmetro médio do colmo de híbridos de milho em função das concentrações de N na solução nutritiva.

MAJEROWICZ et al. (2002), trabalhando com milho em solução nutritiva de Hoagland modificada quanto às fontes de N, observaram que na dose mais baixa, o crescimento da parte aérea foi intensamente alterado e, para as variáveis de crescimento, houve variação em função do genótipo. Resultados semelhantes também foram observados por GONDIM et al. (2010) em um ensaio com omissão de N em milho. Observaram que, para altura e diâmetro, o tratamento proposto (com e sem omissão de N) foi o que mais limitou o crescimento inicial do milho durante o experimento, pois, verificaram que as médias dessas variáveis foram inferiores quando comparados aos do tratamento sem omissão. Essa diminuição está relacionada pelo fato do nitrogênio participar de vários processos metabólicos na planta.

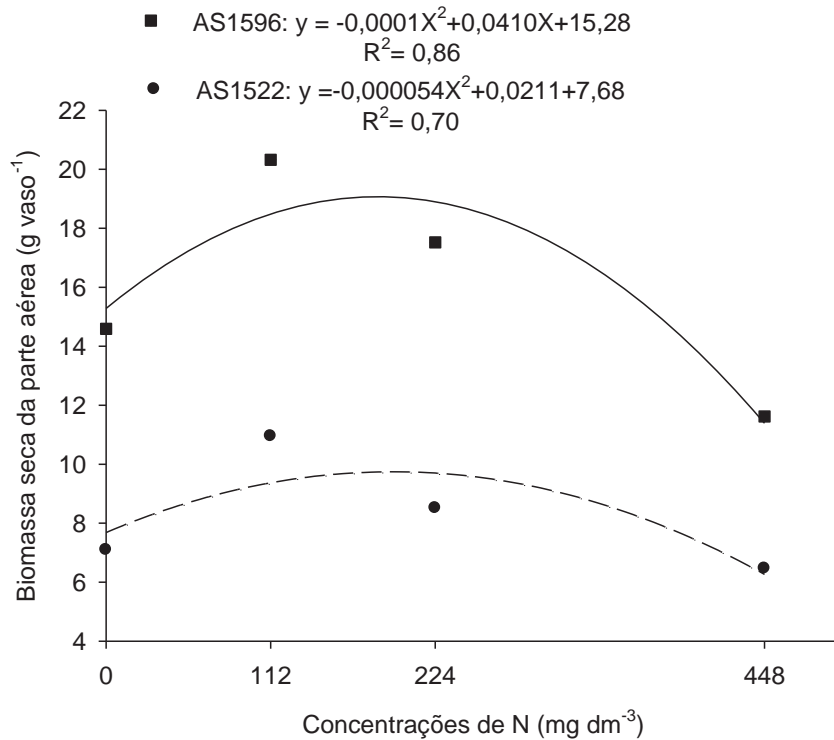
A menor altura e diâmetro para as plantas AS1522 podem está relacionada à baixa eficiência de absorção das raízes. Segundo CLARKSON (1985), as raízes tornam-se os drenos preferenciais de fotoassimilados, quando alguns nutrientes encontram-se limitando o crescimento das plantas, especialmente N.

Nas doses mais elevadas, a diminuição na altura, comprimento de raízes e diâmetro podem está diretamente relacionadas com o efeito de toxidez, devido a concentração ser o dobro da concentração padrão proposta por EPSTEIN & BLOOM (2006).

As concentrações que proporcionaram maiores biomassa seca de raiz e da parte aérea para o genótipo AS1522 foram 122,38 e 194,42 mg dm<sup>-3</sup> de N, e para as plantas AS1596, as doses foram 202,68 e 205,00 mg dm<sup>-3</sup> de N (Figuras 4 e 5). Como constatado para as variáveis biométricas, AS1596 acumulou maior biomassa tanto na raiz quanto na parte aérea em relação às plantas AS1522. A superioridade obtida em relação à testemunha com as doses citadas foram 35 e 49% para raiz e 11 e 45% para parte aérea, respectivamente para os híbridos AS1522 e AS1596.



**Figura 4.** Biomassa seca de raiz de híbridos de milho em função das concentrações de N em solução nutritiva.



**Figura 5.** Biomassa seca da parte aérea, de híbridos de milho em função das concentrações de N em solução nutritiva.

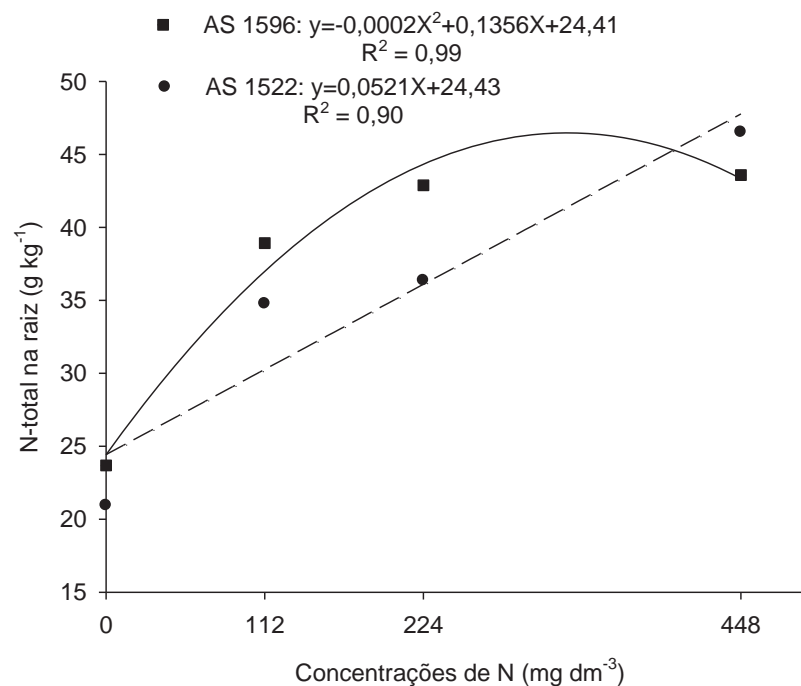
Em relação à biomassa seca de raiz e parte aérea, GONDIM et al. (2010), também observaram resultados semelhantes, em que na concentração 0 mg dm<sup>-3</sup> a biomassa seca foi reduzida. Segundo os mesmos autores, o nitrogênio é o nutriente mais requerido na fase inicial de desenvolvimento do milho, pois é conhecida a importância do nitrogênio como constituinte essencial dos aminoácidos, principais integrantes de proteínas, além da sua atuação na divisão celular.

Além do mais, a diferença de produção de biomassa seca entre níveis baixo e alto de N é dependente da capacidade dos híbridos de se desenvolverem em condições contrastantes desse elemento (SCHRODER et al., 2000).

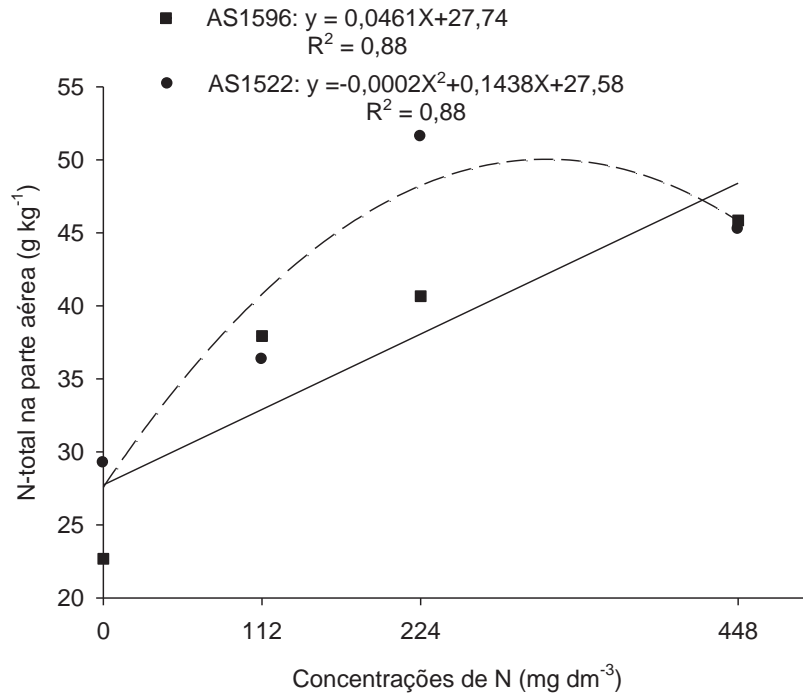
O híbrido AS1522 apresentou resposta linear no teor de N na raiz com o incremento das doses; as plantas AS1596, atingiram o ponto de máximo com a dose 307,38 mg dm<sup>-3</sup> de N, sendo em geral superior ao híbrido AS1522 (Figura 6). Com

relação ao teor de N na parte aérea, o híbrido AS1522 foi superior ao AS1596 (Figura 7), obtendo maiores valores com  $359,50 \text{ mg dm}^{-3}$  de N. Para o genótipo AS1596, houve aumento linear do teor de N com as doses. Logo, observa-se que os comportamentos se inverteram entre raiz e parte aérea. Uma possível explicação seria que o genótipo AS1522 responderia ainda a uma maior quantidade de N na raiz em relação ao AS1596. No entanto, este teor linear na raiz com as concentrações de N estudadas não se converteu em maior biomassa seca de raízes (Figura 4). Os aumentos obtidos em relação à testemunha com as concentrações de ponto de máximo apresentada para teor total de N foram de 93% tanto para raiz (AS1596) quanto para parte aérea (AS1522).

Essa diferença na produção de biomassa seca entre os híbridos se deve provavelmente à eficiência de utilização de ambos, pois quanto maior essa eficiência, maior também é a conversão do N absorvido em proteína.



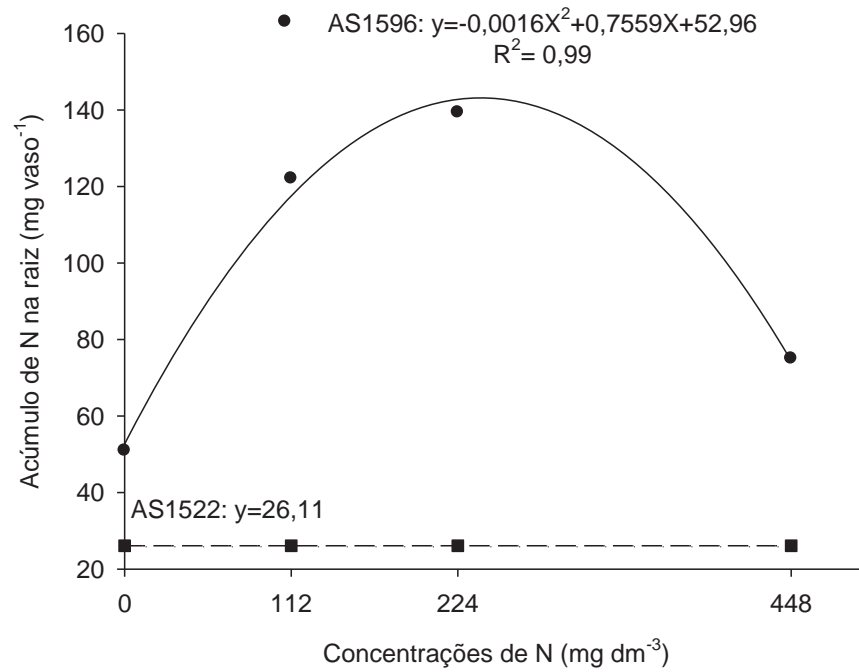
**Figura 6.** Teor de N total na raiz de híbridos de milho em função das concentrações de N em solução nutritiva.



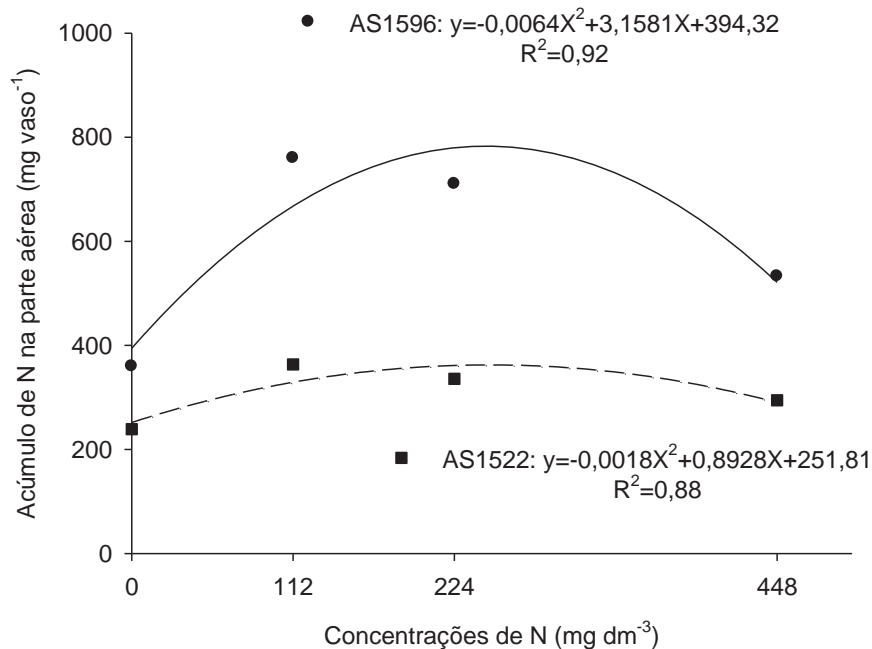
**Figura 7.** Teor de N total na parte aérea de híbridos de milho em função das concentrações de N em solução nutritiva.

Quanto ao acúmulo de N na raiz e na parte aérea, observa-se a superioridade do híbrido AS1596 (Figuras 8 e 9). A dose de N que proporcionou maior valor para acúmulo de raiz foi de 236,22 mg dm<sup>-3</sup> de N. O aumento obtido com a concentração em questão em relação a dose zero foi de 162%.

Na parte aérea, ambos os genótipos apresentaram melhor desempenho praticamente no mesmo nível de N (246,73 e 248,00 mg dm<sup>-3</sup> de N, respectivamente) (Figura 9). No entanto, para o híbrido AS1596, o acúmulo de N na parte aérea foi quase o dobro (113%) do observado para o híbrido AS1522 (65%).



**Figura 8.** Acúmulo de N na raiz de híbridos de milho em função das concentrações de N em solução nutritiva.



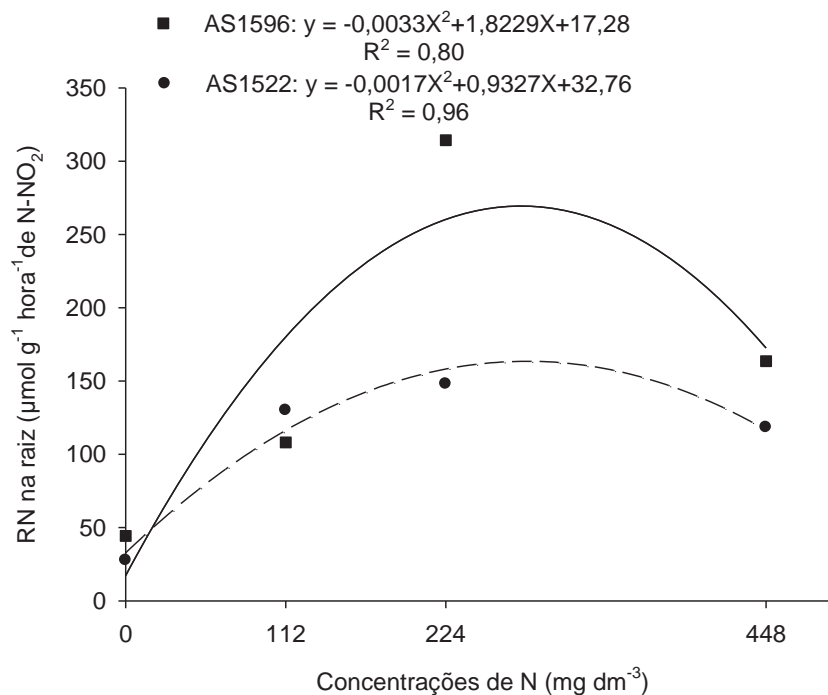
**Figura 9.** Acúmulo de N na parte aérea de híbridos de milho em função das concentrações de N em solução nutritiva.

Apesar dos acúmulos de N da raiz e da parte aérea serem maiores para o híbrido AS1596 e, a maior parte desse acúmulo ser na parte aérea, o transporte da raiz para a parte aérea foi maior no híbrido AS1522. Esse híbrido acumulou 7,81% nas raízes e 92,19% na parte aérea. Já AS1596, acumularam 14,09% e 85,91% na raiz e parte aérea, respectivamente.

O maior acúmulo de N em raízes e parte aérea do híbrido AS1596 pode ter ocorrido devido a um maior acúmulo de biomassa seca, do que na absorção desse nutriente.

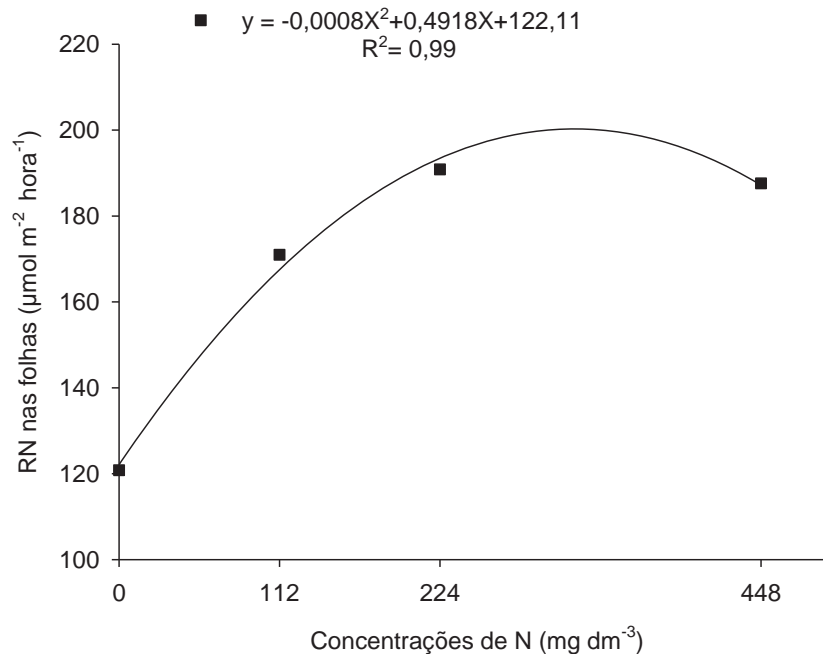
Para a atividade da redutase do nitrato na raiz, verificou-se a superioridade do AS1696 com ambos apresentando melhor desempenho em doses semelhantes (274,32 e 276,20 mg dm<sup>-3</sup> de N para os genótipos AS1522 e AS1596, respectivamente) (Figura 10). Porém, o aumento alcançado com as concentrações observadas em relação ao tratamento com deficiência de N (dose zero) destoam muito entre os híbridos, com

grande superioridade para o híbrido AS1596 (1.456%) em relação ao AS1522 (390%). SACCOMANI et al. (1984), observaram que híbridos mais produtivos apresentam maiores capacidades de absorção e assimilação de N devido a maiores atividades da redutase do nitrato.



**Figura 10.** Atividade da redutase do nitrato na raiz (expressa em  $\mu\text{mol}$  de  $\text{N-NO}_2$  produzido por g de raiz por hora) de híbridos de milho em função das concentrações de N na solução nutritiva.

Na parte aérea, também AS1596 foi o de maior atividade com o máximo da atividade da redutase do nitrato, independente do genótipo, sendo obtido na concentração de  $307,38 \text{ mg dm}^{-3}$  de N (Figura 11), sendo que o ganho constatado em relação à testemunha foi de 76%.

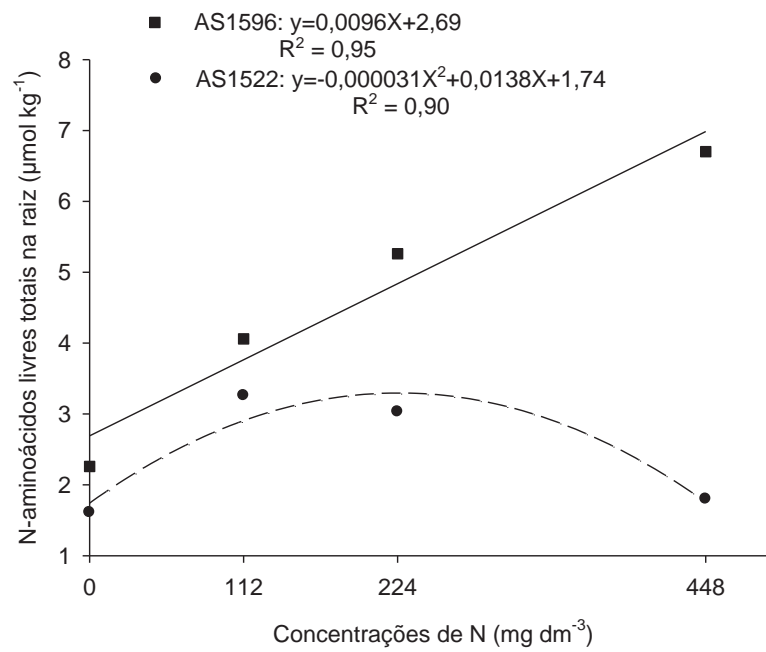


**Figura 11.** Atividade da redutase do nitrato nas folhas (expresso em  $\mu\text{mol}$  de  $\text{N-NO}_2$  produzida por  $\text{m}^2$  e por hora) de híbridos de milho em função das concentrações de N na solução nutritiva.

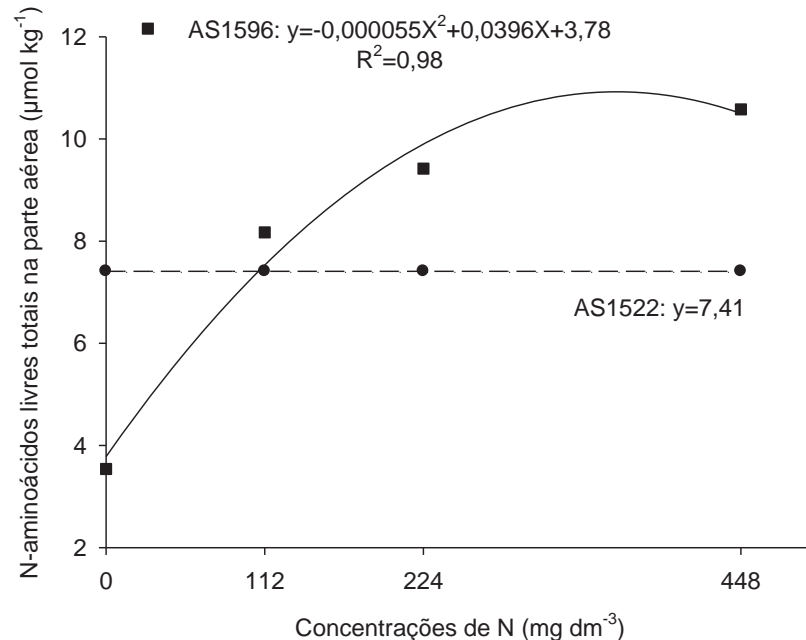
PURCINO et al. (1994) observaram que plantas com alta atividade da redutase do nitrato (RN) tendem a ser responsivos à adubação nitrogenada e eficientes no uso do N em ambientes com baixo teor deste nutriente, enquanto plantas que só produzem bem quando adubados tendem a ter baixa atividade da redutase do nitrato. No presente trabalho, verificou-se que o aumento da concentração de N promoveu um aumento da atividade da redutase do nitrato independentemente do genótipo, mas que o máximo de atividade da enzima dependeu da concentração de N e do genótipo (Figura 11). Para a raiz ocorreu o mesmo comportamento, mas em concentrações de N diferentes por genótipo (Figura 10). De acordo com DURÃES et al. (2004), a avaliação da atividade da nitrato redutase pode ser um bom indicativo em plantas de milho cultivadas sob condições de baixos níveis de N, pois como constatado no presente estudo, a de maior

RN e com maior produtividade apresentou incremento em sua atividade com concentrações mais altas.

Para aminoácidos livres totais na raiz, o híbrido AS1596 foi superior com aumento linear com as doses de N (Figura 12). Na parte aérea houve significância apenas para as plantas AS1596, cujo maior valor foi obtido na concentração de 359,56 mg dm<sup>-3</sup> de N (Figura 13). De acordo com PHELAN et al. (1996), quando as plantas são submetidas a estresse como, por exemplo, desequilíbrio de nutrientes, a eficiência das vias bioquímicas de síntese de compostos estruturais diminui, causando o acúmulo de aminoácidos e açúcares livres nos tecido. Essa seria uma possível explicação para a diferença entre os híbridos, em que, no mais produtivo, as raízes acumularam aminoácidos não convertendo os mesmos em proteínas. Com relação ao aumento proporcionado com as concentrações citadas para os modelos quadráticos, foram de 88 e 189%, respectivamente para aminoácidos livres totais na raiz (AS1522) e parte aérea (AS1596).



**Figura 12.** Aminoácidos livres totais na raiz (expresso em  $\mu\text{mol}$  de N-amínico por kg de biomassa seca) de híbridos de milho em função das concentrações de N na solução nutritiva.



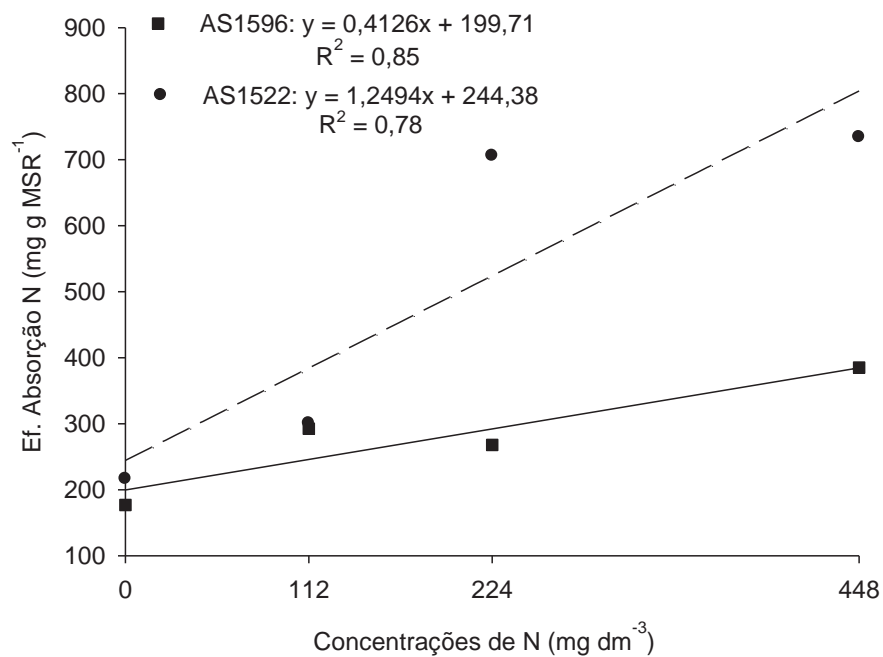
**Figura 13.** Aminoácidos livres totais na parte aérea (expresso em  $\mu\text{mol}$  de N-amínico por kg de biomassa seca) de híbridos de milho em função das concentrações de N na solução nutritiva.

BREDEMEIER & MUNDSTOCK (2000), em revisão sobre a absorção do N em plantas e o ciclo dos aminoácidos entre colmo e raiz, citam que a aminoácidos em altos níveis inibem a ação dos transportadores de  $\text{NO}_3^-$  na membrana e a atividade da enzima redutase do nitrato. O que possivelmente explicaria a diminuição da atividade dessa enzima nas raízes do genótipo AS1596 (Figura 10), após o ponto de máximo e o teor de aminoácidos ter incrementado linearmente nas raízes (Figura 12), ou seja, um acúmulo de aminoácidos possivelmente levou a uma menor atividade da RN.

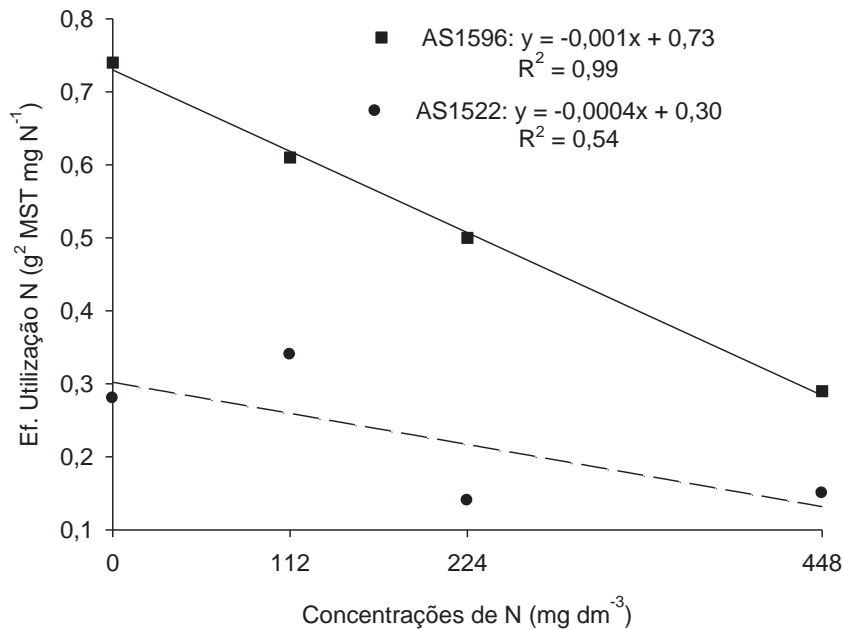
A comparação entre a raiz e parte aérea revela que houve maiores acúmulos de biomassa seca, acúmulo de N, aminoácidos livres totais na parte aérea.

Na Figuras 14 e 15 são apresentadas as eficiências de absorção e utilização de N, sendo que, para a eficiência de absorção (Figura 14) os dois genótipos apresentaram aumento linear com o aumento das doses de N e, para a eficiência de

utilização, o efeito foi oposto (Figura 15), ou seja, diminuição linear da eficiência com as doses empregadas. Isso pode ser explicado pelo fato de plantas eficientes, requerem menos quantidades de nutrientes para alcançar boa produção. Esse resultado corrobora com o descrito por FERNANDES et al. (2005), em que com o aumento da dose de N aplicada, a eficiência do uso de nitrogênio de todas as cultivares diminuiu.



**Figura 14.** Resposta dos híbridos de milho para eficiência de absorção (expressa em mg g MSR<sup>-1</sup>) em crescentes concentrações de N.



**Figura 15.** Resposta dos híbridos de milho para eficiência de utilização (expressa em g<sup>2</sup> de MST por mg de N) em crescentes concentrações de N.

Apesar do genótipo AS1596 apresentar menor eficiência de absorção, para a eficiência de utilização verifica-se superioridade, ou seja, apresenta maior capacidade de produzir biomassa por quantidade de nitrogênio aplicado (Figura 15).

Ressalta-se, ainda, que para a eficiência de absorção para ambos os híbridos, na concentração zero praticamente se igualavam. No entanto, com a aplicação de N em solução nutritiva, resultou em aumentos superiores para as plantas AS1522. Raciocínio análogo pode ser realizado para a eficiência de utilização, isto é, na concentração zero, ambos os híbridos apresentavam valores distintos, com superioridade para o híbrido AS1596, ocorrendo o decréscimo da eficiência com as quantidades aplicadas de N na solução nutritiva. O híbrido AS1522 é mais eficiente na absorção e AS1596 é mais eficiente na utilização de N.

Para os ganhos em relação à testemunha, constata-se que os maiores valores estiveram associados aos genótipos AS1596. Entre as variáveis estudadas, constatou-

se que o ganho obtido na atividade da redutase do nitrato na raiz para o genótipo AS1596, foi muito superior ao genótipo AS1522.

As variáveis que apresentaram maior ganho em relação à testemunha são: NRR>ANR>ALPA>NTR>ALR=ANPA>NRPA>NTPA>CR>MSR>MSPA>Alt>NF>Di.

Dentre os atributos que obtiveram ganhos em relação à testemunha, três dos cinco atributos são bioquímicos, indicando que estas avaliações são importantes para situações de estresse nutricional em N. As variáveis biométricas não foram tão satisfatórias na avaliação procedida.

## **2.4. CONCLUSÕES**

1- As maiores diferenças entre os híbridos para as variáveis biométricas, biomassa seca, acúmulo de N e aminoácidos livres totais foram observadas na parte aérea das plantas.

2- Na raiz, a atividade da redutase do nitrato foi a variável que proporcionou as maiores diferenças entre genótipos.

3- Para os ganhos em relação à testemunha, constata-se que os maiores ganhos estiveram associados ao genótipo AS1596 (mais produtivo).

4- Os genótipos além de serem distintos quanto à produtividade, também são distintos quanto à eficiência de absorção e de utilização de nitrogênio.

## **2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237 p.

BATAGLIA, O. C.; FURLANI, A. M. C.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R.; GALLO, J. R. **Métodos de análise química de plantas**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1983. 41p. (Boletim Técnico, 78).

BORGES, E. A.; FERNANDES, M. S.; LOSS, A.; SILVA, E. E.; SOUZA, S. R. Acúmulo e remobilização de nitrogênio em variedades de milho. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.19, n. 3, p. 278-286, 2006.

BREDEMEIER, C. & MUNDSTOCK, C.M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 365-372, 2000.

CASAGRANDE, J. R. R. & FORNASIERI FILHO, D. Adubação nitrogenada na cultura do milho safrinha. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 1, p. 33-40, 2002.

CAZETTA, J. O. **Influência do nitrogênio e potássio no metabolismo, no desenvolvimento e na produção de plantas de milho**. Jaboticabal, 1997. 121 f. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1997.

CLARKSON, D. T. Adaptações morfológicas e fisiológicas das plantas a ambientes de baixa fertilidade. In: REUNIÃO DE FERTILIDADE DO SOLO, 16., 1985, Ilhéus. **Anais...** Ilhéus: P. Cabala Rosand, 1985. p. 45-75.

DURÃES, F. O. M.; SANTOS, M. X.; GAMA; E. E. G; MAGALHÃES, P. C.; ALBUQUERQUE, P. E. P.; GUIMARÃES, C. T. **Fenotipagem associada à tolerância a seca em milho para uso em melhoramento, estudos genômicos e seleção**

**assistida por marcadores.** Sete Lagoas: MAPA/Embrapa Milho e Sorgo, 2004. 18 p. (Circular Técnica, 39).

EPSTEIN, E. & BLOOM, A. **Nutrição mineral de plantas:** princípios e perspectivas. Londrina: Editora Planta, 2006. 401 p.

FAGERIA, N. K. Otimização da eficiência nutricional na produção das culturas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 2, n. 1, p.6-16, 1998.

FERNANDES, F. C. S.; BUZETTI, S.; ARF, O.; ANDRADE, J. A. C. Doses, eficiência e uso do nitrogênio por seis cultivares de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 2, p. 195-204, 2005.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Científica Symposium**, Lavras, v. 6, n. 2, p. 36-41, 2008.

GONDIM, A. R. O.; PRADO, R. M.; ALVES, A. U.; FONSECA, I. M. Eficiência nutricional do milho cv. BRS 1030 submetido à omissão de macronutrientes em solução nutritiva. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n. 4, p. 539-544, 2010.

HOAGLAND, D. R. & ARNON, D. I. **The water culture method of growing plants without soil.** Berkeley, University of California, 1950. 32 p.

JAWORSKI, E. G. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 43, n. p. 1274- 1279, 1971.

MAJEROWICZ, N.; PEREIRA, J. M. S.; MEDICI, L. O.; BISON, O.; PEREIRA, M. B.; SANTOS JUNIOR, U. M. Estudo da eficiência de uso do nitrogênio em variedades locais e melhoradas de milho. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 129-136, 2002.

MOORE, S. Amino acids analysis: Aqueous dimethylsulfoxide as solvent for the ninhydrin reaction. **The Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 243, n. 23, p. 6281-6283, 1968.

PHELAN, P. L.; NORRIS, K. H.; MASON, J. F. Soil-Management history and host preference by *Ostrinia nubilalis*: Evidence for plant mineral balance mediating insect-plant interactions. **Environmental Entomology**, Washington, v. 25, n. 6, p.1329-1336, 1996.

PURCINO, A. A. C.; MAGNAVACA, R.; MACHADO, A. T.; MARRIEL, I. E. Atividade da redutase do nitrato em genótipos antigos e modernos de milho, cultivados sob dois níveis de nitrogênio. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 6, n. 1, p. 41-46, 1994.

SANTOS, M. M.; GALVÃO, J. C. C.; SILVA, I. R.; MIRANDA, G. V.; FINGER, F. L. Épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura na cultura do milho em plantio direto, e alocação do nitrogênio ( $^{15}\text{N}$ ) na planta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, n. 4, p. 1185-1194, 2010.

SACCOMANI, M.; CACCO, G.; FERRARI, G. Changes in the kinetic parameters of sulfate uptake in maize hybrids during the selection period of 1930 through 1975. **Maydica**, Bergamo, v. 29, p. 133- 140, 1984.

SCHRODER, J. J. ; NEETESON, J. J. ; OENEMA, O. ; STRUIK, P. C. Does the crop or the soil indicate how to save nitrogen in maize production. Reviewing the state of art. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 68, n. 1, p. 151-164, 2000.

SIDDIQI, M. Y & GLASS, A. D. M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 4, n. 3, p. 289-302, 1981.

SWIADER, J. M.; CHYAN, Y.; FREIJI, F. G. Genotypic differences in nitrate uptake and utilization efficiency in pumpkin hybrids. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 17, p. 1687-1699, 1994.

### **CAPÍTULO 3. AVALIAÇÃO DO NITROGÊNIO NAS DIFERENTES PARTES DE PLANTAS DE GENÓTIPOS DE MILHO**

**RESUMO:** Com o objetivo de avaliar o N em plantas de milho nos diferentes órgãos (colmo, folhas e grãos) e, avaliar as respostas bioquímico-fisiológicas de híbridos com produtividade distinta, foi montado experimento em condições de campo na área da Fazenda Experimental da FCAV/Unesp, Jaboticabal. Os tratamentos corresponderam a dois genótipos (híbridos simples) submetidos a quatro níveis de N em delineamento em blocos ao acaso, com três repetições. A unidade experimental foi composta por parcelas com quatro linhas de cinco metros de comprimento, no espaçamento de 0,9 metros entre linhas. A área útil da parcela foi constituída pelas duas linhas centrais, com bordadura de 0,5 m nas extremidades. Os atributos avaliados foram: atividade da redutase do nitrato, teor de aminoácidos livres totais, teor de nitrogênio total, teor de proteína bruta, massa de matéria seca e acúmulo de N no caule, folha diagnóstica e grãos. Também foram mensurados: altura, diâmetro, número de grãos e número de fileiras por espiga. O genótipo AS1596 foi superior ao AS1522 para a atividade da redutase do nitrato, acúmulo de N nos grãos e biomassa seca do caule e grãos, houve acúmulo no teor de aminoácidos livres totais no híbrido AS1596. O caule foi o que mais contribuiu para a redistribuição de nitrogênio.

**Palavras – chave:** Acúmulo de nitrogênio, redistribuição, transporte, *Zea mays*

## **Evaluation of nitrogen in different parts of plants of maize genotypes**

**SUMMARY:** Aiming to evaluate the nitrogen in different organs (stem, leaves and kernels corn plants), and assess the biochemical and physiological responses of hybrids with different productivity, an experiment was set up under field conditions in the Experimental Farm on the FCAV/UNESP, Jaboticabal. The treatments consisted of two genotypes (hybrids) subjected to four N levels in a randomized block design with three replications. The experimental unit was composed by plots with four rows of five meters long, spaced 0.9 meters between rows. The two central lines, with border of 0.5 m at the ends, were used for seedlings. The attributes evaluated were: leaf nitrate reductase activity, total free amino acid content, total nitrogen content, dry matter and N accumulation in stem, leaf and grain. Were also measured height, diameter, number of rows and number of grains per ear. The genotype AS1596 was higher than AS1522 for nitrate reductase activity, N accumulation in grain, stem and grain, dry biomass. The total free amino acid content was greatest in hybrid AS1596. The stems was the most likely contributed to the redistribution of nitrogen.

**Keywords:** Accumulation of nitrogen, redistribution, transport, *Zea mays*

### 3.1. INTRODUÇÃO

O plantio e a condução de uma lavoura de milho visam obter alta produtividade e lucro com a venda do produto colhido. Além de condições de solo e clima favoráveis à sua implantação, a cultura requer do agricultor muitas e oportunas decisões, em geral baseadas em recomendações técnicas da pesquisa. Dentre estas destacam-se a escolha da cultivar e da melhor alternativa de manejo da adubação (BORGES et al., 2006).

O nitrogênio é o nutriente mais exigido pela cultura do milho (SILVA et al., 2005). Segundo os mesmos autores, a dose a ser aplicada pode variar em função da cultura antecessora, a produtividade de grãos e o teor de matéria orgânica no solo. As recomendações atuais para a adubação nitrogenada em cobertura são realizadas com base em curvas de resposta, histórico da área e produtividade esperada (COELHO et al, 2009).

O nitrogênio influencia no diretamente no rendimento dos grãos, principalmente por ele estar relacionado aos mais importantes processos fisiológicos que ocorrem na planta, tais como: fotossíntese, respiração, desenvolvimento e atividade das raízes, absorção iônica de outros nutrientes, crescimento e diferenciação celular e genética (GAVA et al., 2010).

Atualmente, muito se discute à respeito de quantidades de N aplicadas à cultura do milho, como também sua influência na produtividade (FARINELLI & LEMOS, 2010). De acordo com COELHO (2007), a quantidade média de N empregada em lavouras comerciais do Brasil é de 60 kg ha<sup>-1</sup>, sendo muito inferior às da China e dos Estados Unidos, que correspondem a 130 e 150 kg ha<sup>-1</sup> de N, respectivamente. Além disso, a eficiência do uso de N diminui em relação ao aumento de doses aplicadas, em vista de o suprimento de N exceder as necessidades da cultura (FERNANDES et al., 2005).

O uso eficiente de nutrientes pelas plantas está relacionado à eficiência na aquisição, no transporte e na utilização de nutrientes que variam em função do genótipo

e de fatores ambientais (BALIGAR & FAGERIA, 1999; MARSCHNER, 1995). Diferenças genotípicas na eficiência a alguns nutrientes têm sido atribuídas a uma série de mecanismos, que estão relacionados às características de absorção, transporte a longa distância e utilização de nutrientes pela planta, de forma isolada ou em conjunto (CLARK, 1983).

Em decorrer disso, objetivou-se avaliar as respostas bioquímico-fisiológicas (do colmo, folhas e grãos) e características biométricas de híbridos com potenciais produtivos distintos, submetidos a diferentes doses de nitrogênio em condições de campo.

### 3.2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em condições de campo em Jaboticabal, SP, em local cujas coordenadas são: 21°15'22" de latitude sul e 48°18'58" de longitude oeste e altitude de 614 m. O clima da região é tipo Aw, baseado na classificação internacional de Köppen. O solo da área experimental é classificado como Latossolo Vermelho eutroférico típico textura muito argilosa, segundo ANDRIOLI & CENTURION (1999).

Antes da instalação do experimento, foi realizada amostragem de solo (agosto de 2010) na camada de 0-20 cm, para verificação da fertilidade (Tabela 2), e posteriormente a área foi areada e gradeada.

**Tabela 2.** Análise de rotina, micronutrientes e enxofre da área experimental

	pH (CaCl <sub>2</sub> )	M.O. g/dm <sup>3</sup>	P (resina) mg/dm <sup>3</sup>	K	Ca	Mg	(H+Al) mmol/dm <sup>3</sup>	SB	T	Al	V %
<b>Solo</b>	5,5	26	75	5,5	44	20	31	69,5	100,5	-	69
	B	Cu	Fe	Mn	Zn	S-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>					
<b>Solo</b>	0,56	1,0	12	41,3	1,7	11					

Na véspera da instalação do experimento, a área foi sulcada e realizado juntamente a adubação de semeadura, que consistia em  $300 \text{ kg ha}^{-1}$  do formulado 4-20-20 (fonte disponível na fazenda experimental). Os genótipos utilizados foram os híbridos simples AS1522 e AS1596 obtidos junto à Agroeste Sementes da Monsanto do Brasil<sup>®</sup>. A semeadura foi realizada em sete de dezembro de 2010, sendo este realizado manualmente, utilizando 8 sementes por metro.

Os tratamentos corresponderam a dois genótipos submetidos a quatro níveis de N em delineamento em blocos ao acaso, com três repetições. A unidade experimental foi composta por parcelas com quatro linhas de cinco metros de comprimento, no espaçamento de 0,9 metros entre linhas. A área útil da parcela foi constituída pelas duas linhas centrais, com bordadura de 0,5 m nas extremidades.

Após quinze dias da semeadura, foi aplicado o herbicida Velpar K<sup>®</sup> para controle de plantas invasoras e os inseticidas Karate<sup>®</sup> e Lorsban<sup>®</sup> para o controle de lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*).

As doses de N utilizadas foram zero, metade da padrão, padrão e duas vezes a padrão, conforme RAIJ et al. (1997), considerando média resposta à adubação nitrogenada em função do histórico e expectativa de produtividade de grãos entre 10 e  $12 \text{ t ha}^{-1}$ , correspondendo às doses 0, 55, 110 e  $220 \text{ kg ha}^{-1}$  de N. As doses foram aplicadas em cobertura, 30 dias após a semeadura (estádio V<sub>7</sub>), utilizando uréia com 45% de N.

A avaliação do estado nutricional foi realizada, coletando-se o terço central da folha da base da espiga, na fase do pendoamento (50% das plantas pendoadas) segundo CANTARELLA et al. (1997) para a análise da atividade da redutase do nitrato. Também foram coletadas, além das folhas diagnósticas, caules e espigas de 10 plantas da área útil para análise do teor de nitrogênio total, teor de aminoácidos livres totais, teor de proteína bruta, biomassa seca e acúmulo de N, cujas metodologias dessas análises estão descritas no capítulo 2.

Foram também avaliados a altura e diâmetro do caule e, componentes de produção (número de espigas por planta, número de grãos por espiga, número de fileiras por espiga e número de grãos por fileira). Para avaliação da altura, utilizou-se uma trena com medição do colo da planta até a ponto do pendão. O diâmetro do entrenó da base da primeira espiga foi medido com um paquímetro.

Os dados foram analisados através de teste F e, quando significativos ( $p \leq 0,05$ ), foi realizado teste de comparação de médias (teste de Tukey a 5%) para o fator qualitativo e análise de regressão linear e polinomial para o fator quantitativo (BANZATTO & KRONKA, 2006). Os dados foram analisados com auxílio do software SISVAR (FERREIRA, 2008).

### **3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Observa-se que não houve efeito significativo ( $p \leq 0,05$ ) para a interação genótipo e doses para a maioria das variáveis, exceto para teor de N no colmo e grãos, acúmulo de N no colmo e palha+sabugo, teor de aminoácidos livres no colmo, folhas e grãos e produção (Tabela 3).

**Tabela 3.** Resumo da análise de variância para as variáveis em função dos genótipos e doses de nitrogênio de milho em condições de campo

Causas de variação	RN	BSC	BSF	BSG	BSPS	NTC	NTFD
	( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ hora}^{-1}$ de N- NO <sub>2</sub> )	(kg planta <sup>-1</sup> )	(kg planta <sup>-1</sup> )	(kg planta <sup>-1</sup> )	(kg planta <sup>-1</sup> )	(g kg <sup>-1</sup> )	(g kg <sup>-1</sup> )
-----Teste de F-----							
Genótipos (G)	3,73 <sup>1</sup>	7,78*	11,94*	15,59**	2,66 <sup>NS</sup>	5,87*	0,05 <sup>NS</sup>
Doses (D)	1,73 <sup>NS</sup>	8,47**	0,99 <sup>NS</sup>	3,26 <sup>NS</sup>	1,82 <sup>NS</sup>	16,41**	1,38 <sup>NS</sup>
G x D	3,53 <sup>NS</sup>	2,55 <sup>NS</sup>	1,76 <sup>NS</sup>	0,20 <sup>NS</sup>	1,90 <sup>NS</sup>	11,80**	2,46 <sup>NS</sup>
C.V. (%)	10,49	6,47	19,50	17,83	13,93	9,07	12,89
	NTG	ANC	ANF	ANG	ANPS	ALC	ALFD
	(g kg <sup>-1</sup> )	(g planta <sup>-1</sup> )	(g planta <sup>-1</sup> )	(g planta <sup>-1</sup> )	(g planta <sup>-1</sup> )	( $\mu\text{mol kg}^{-1}$ )	( $\mu\text{mol kg}^{-1}$ )
-----Teste de F-----							
Genótipos (G)	3,83 <sup>NS</sup>	17,54**	10,03**	12,50**	0,002 <sup>NS</sup>	15,28**	7,12*
Doses (D)	3,73*	22,66**	1,87 <sup>NS</sup>	2,65 <sup>NS</sup>	19,49**	9,51**	22,07**
G x D	4,44*	6,53**	0,10 <sup>NS</sup>	0,38 <sup>NS</sup>	3,62*	5,97**	7,48**
C.V. (%)	3,27	10,57	21,81	18,49	14,28	20,98	3,29
	ALG	Alt	Dia	N° grãos E <sup>-1</sup>	N° fileiras E <sup>-1</sup>	Produção	Ef. Agron.
	( $\mu\text{mol N-aminoácido}$ kg <sup>-1</sup> )	(m planta <sup>-1</sup> )	(cm planta <sup>-1</sup> )	(unid)	(unid)	(kg planta <sup>-1</sup> )	kg grãos kg <sup>-1</sup> de N planta <sup>-1</sup> )
-----Teste de F-----							
Genótipos (G)	49,51**	3,50 <sup>NS</sup>	2,03 <sup>NS</sup>	0,084 <sup>NS</sup>	0,80 <sup>NS</sup>	25,30**	29,36**
Doses (D)	14,74**	1,46 <sup>NS</sup>	1,43 <sup>NS</sup>	2,64 <sup>NS</sup>	2,24 <sup>NS</sup>	17,00**	7,48*
G x D	4,32*	0,58 <sup>NS</sup>	0,23 <sup>NS</sup>	3,12 <sup>NS</sup>	3,00 <sup>NS</sup>	4,82 <sup>1</sup>	5,02*
C.V. (%)	9,90	16,89	15,39	6,95	4,08	11,16	10,38

\* e <sup>NS</sup> - Significativo e não significativo a 5%, respectivamente. \*\* - Significativo a 1%.

(RN) Atividade da redutase do nitrato folhas diagnósticas; (BSC) biomassa seca caule; (BSF) biomassa seca folhas; (BSG) biomassa seca grãos; (BSPS) biomassa seca de palha e sabugo; (NTC) teor de nitrogênio total caule; (NTFD) teor de nitrogênio total folhas diagnósticas; (NTG) teor de nitrogênio total grãos; (ANC) acúmulo de N caule; (ANF) acúmulo de N folhas; (ANG) Acúmulo de N grãos; (ANPS) Acúmulo de N palha e sabugo; (ALC) teor de aminoácidos livres totais caule; (ALFD) aminoácidos livres folhas; (ALG) aminoácidos livres grãos; (Alt) Altura; (Dia) Diâmetro; (N° grãos E<sup>-1</sup>) número de grãos por espiga; (N° fileira E<sup>-1</sup>) número de fileiras por espiga.

Houve efeito significativo para genótipos para atividade da redutase do nitrato, acúmulo de N nos grãos e nas folhas e biomassa seca do colmo, folhas e grãos (Tabela 4), sendo que para todas essas, o genótipo AS1596 superior ao AS1522. Essa superioridade provavelmente se deve ao fato de ser mais produtivo e com isso tenha melhores mecanismos de eficiência de absorção, utilização, transporte e redistribuição de nutrientes.

**Tabela 4.** Efeito dos genótipos para atividade da redutase do nitrato, acúmulo de N nos grãos e massa de matéria seca no caule e grãos

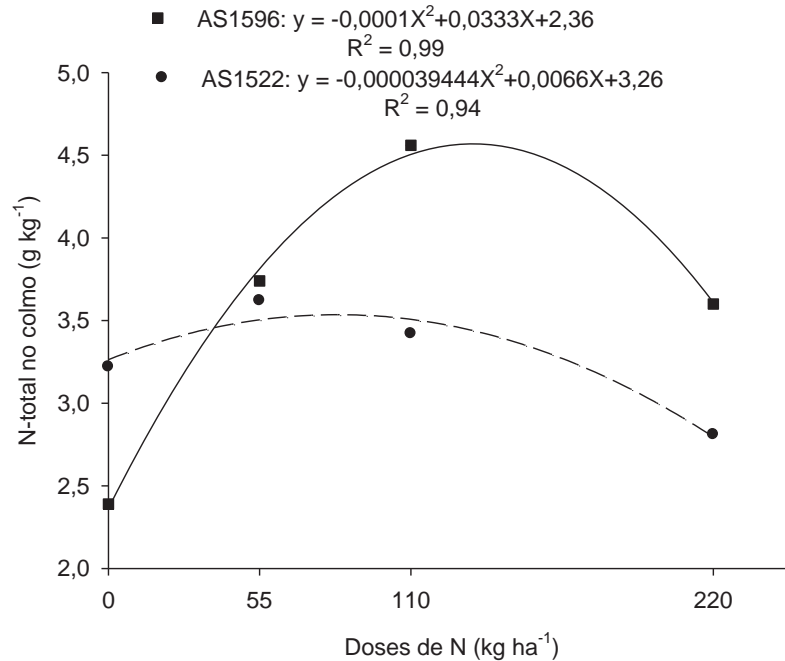
	<b>Redutase do nitrato</b> ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ hora}^{-1}$ de N- NO <sub>2</sub> )	<b>Acúmulo N grãos</b> (g planta <sup>-1</sup> )	<b>Acúmulo N Folhas</b> (g planta <sup>-1</sup> )
<b>AS1596</b>	390,26 a	6,82 a	7,26 a
<b>AS1522</b>	352,25 b	5,20 b	5,47 b

	<b>Biomassa seca colmo</b> (kg planta <sup>-1</sup> )	<b>Biomassa seca folhas</b> (kg planta <sup>-1</sup> )	<b>Biomassa seca grãos</b> (kg planta <sup>-1</sup> )
<b>AS1596</b>	0,50 a	0,38 a	0,50 a
<b>AS1522</b>	0,47 b	0,29 b	0,37 b

\*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

As doses que proporcionaram maior teor de nitrogênio total no colmo foram 166 e 83,66 kg ha<sup>-1</sup> de N (Figura 16) para os genótipos AS1596 e AS1522 respectivamente. O teor de N-total nos grãos se ajustou o modelo de regressão crescente linear apenas para o genótipo AS1522 (Figura 17).



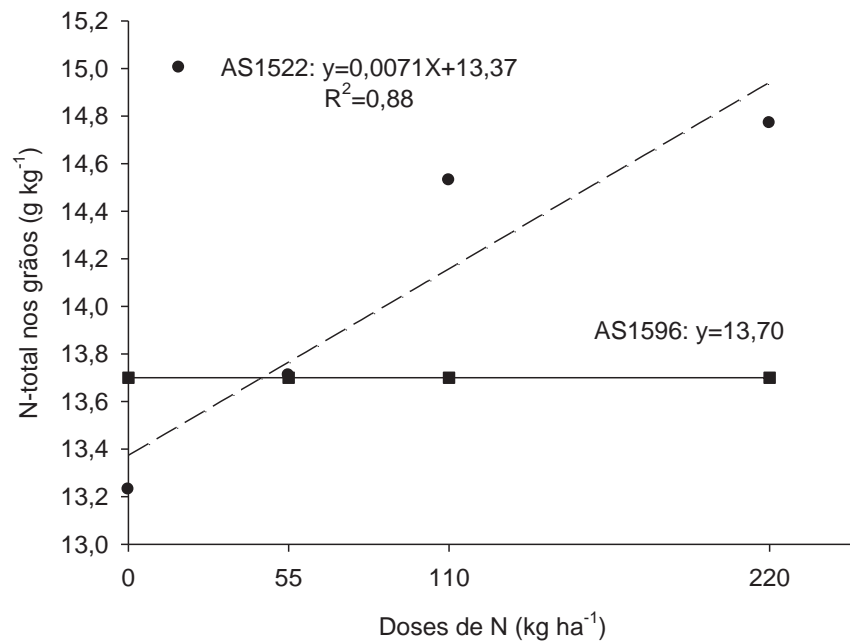
**Figura 16.** Teor de nitrogênio total do colmo em híbridos de milho em função de doses de nitrogênio

Essa diferença no teor de N-total no caule entre os genótipos se deve provavelmente à eficiência de utilização de ambos, pois quanto maior essa eficiência, maior também é a conversão do N absorvido em proteína. Apesar das plantas AS1596 apresentarem menor teor na dose zero, verifica-se que rapidamente houve incremento conforme se aumentavam as doses. Logo, o genótipo AS1596 é mais eficiente na utilização do N e mais responsivo, quando comparado ao genótipo AS1522.

As plantas AS1522 continham menores teores de N no caule em doses mais altas (curva quadrática), o que evidencia um transporte de N a partir da dose ótima para suprir a necessidade dos grãos. O mesmo aconteceu com as plantas AS1596, porém nos grãos, o teor de N-total não foi afetado pelas doses aplicadas (Figura 17).

A remobilização de N ocorre durante todo o período de desenvolvimento da planta, principalmente entre os órgãos reprodutivos e os vegetativos, na qual há uma

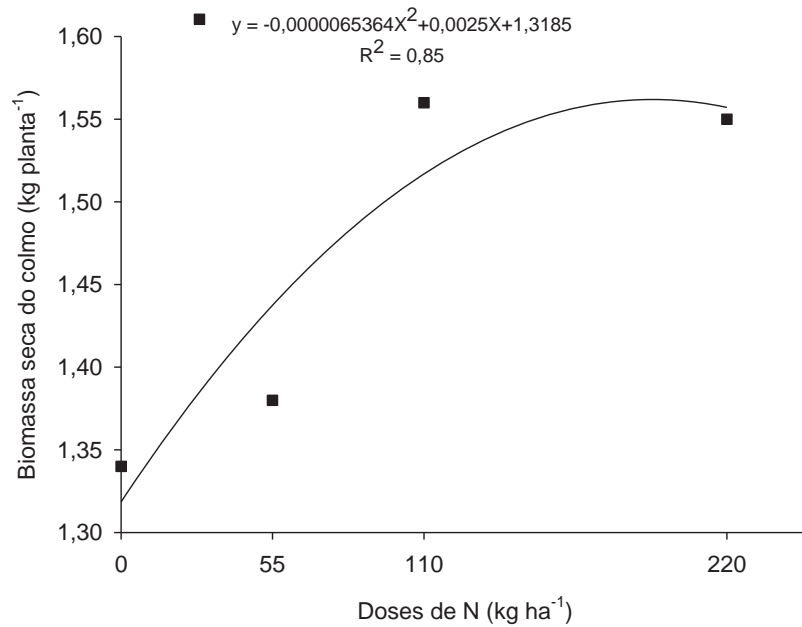
predominância da redistribuição de N do colmo e de folhas para os grãos (AUSTIN et al., 1977; DIDONET et al., 2000; REVOREDO, 2008).



**Figura 17.** Teor de nitrogênio total dos grãos em híbridos de milho em função de doses de nitrogênio

Apesar de não ter havido efeito significativo para o teor de N nas folhas diagnósticas, as plantas de milho apresentaram médias de 19,09 e 18,88 g kg<sup>-1</sup> de N para os genótipos AS1596 e AS1522 respectivamente. Esses valores estão abaixo aos valores apresentados por RAIJ et al. (1997), como valores adequados para a cultura do milho, sendo esses valores entre 27-35 g kg<sup>-1</sup>.

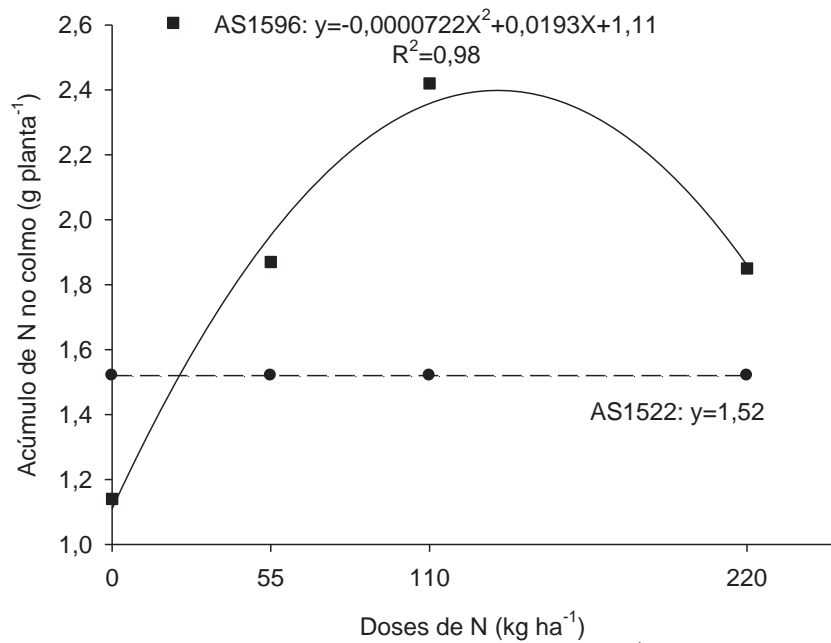
Para biomassa seca do colmo (Figura 18), observa-se significância apenas para doses, sendo a dose de 191,24 kg ha<sup>-1</sup> a que proporcionou o maior teor de biomassa.



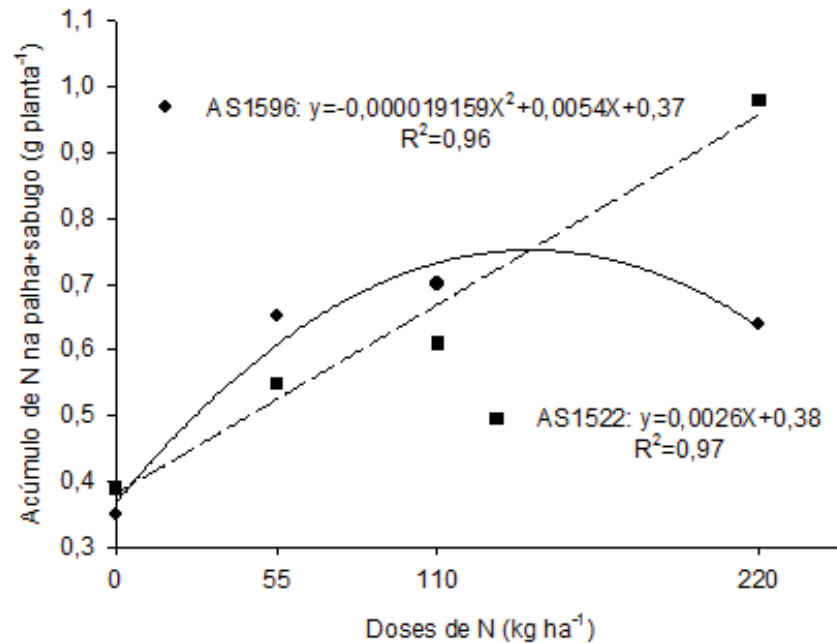
**Figura 18.** Biomassa seca do colmo em híbridos de milho em função de doses de nitrogênio

VILLELA (1999), trabalhando com duas doses de nitrogênio e quatro fontes, encontrou menor biomassa seca para o tratamento sem aplicação de N em cobertura, evidenciando o efeito positivo da adubação nitrogenada em relação à matéria seca.

Nas figuras 19 e 20, estão apresentadas o acúmulo de N no colmo e palha+sabugo.



**Figura 19.** Acúmulo de N do colmo (expresso em g planta<sup>-1</sup>) em híbridos de milho em função de doses de nitrogênio



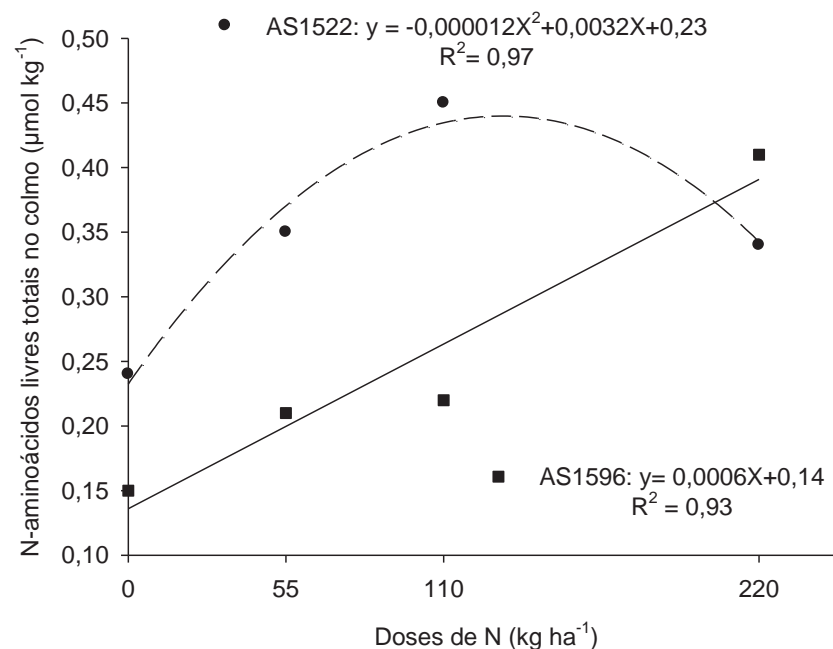
**Figura 20.** Acúmulo de N da palha+sabugo em híbridos de milho em função de doses de nitrogênio

A dose que apresentou os melhores desempenhos para acúmulo de N no colmo foi 133,65 kg ha<sup>-1</sup> para as plantas AS1596 e para acúmulo na palha+sabugo, 140,93 kg ha<sup>-1</sup> para as plantas AS1596 (Figuras 19 e 20).

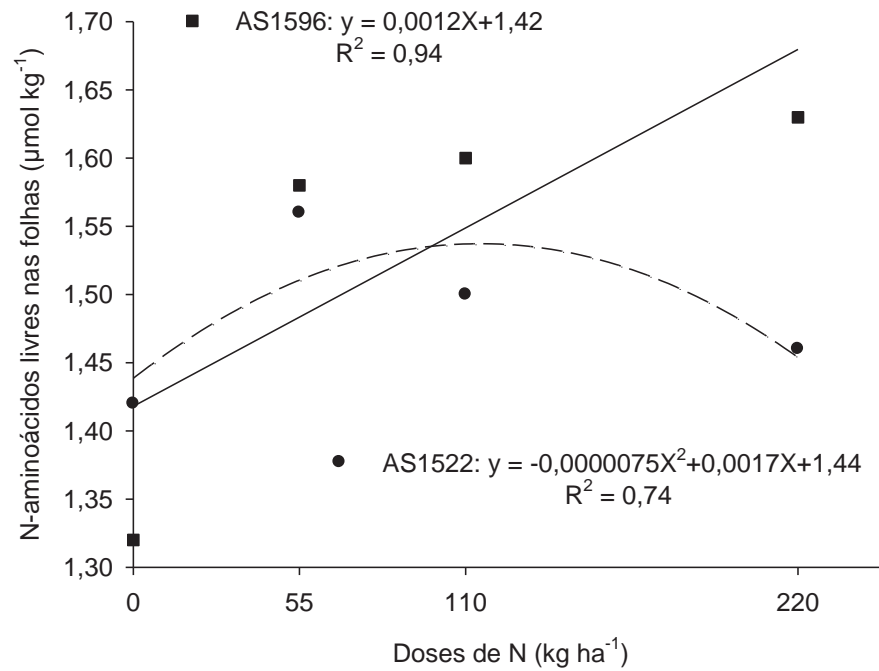
Ambos os híbridos acumularam aproximadamente a mesma quantidade de N nas diferentes partes. AS1596 acumulou 11,04% no colmo, 44,03% nas folhas, 41,36% nos grãos e 3,57% na palha+sabugo. As plantas AS1522 acumularam 11,85; 42,63; 40,61 e 4,91% no colmo, folhas, grãos e palha+sabugo respectivamente.

A partir do estágio V<sub>10</sub>, a planta de milho inicia um rápido e contínuo crescimento, com acumulação de nutrientes e peso seco, os quais continuarão até os estádios reprodutivos (MAGALHÃES & DURÃES, 2006) para formação dos grãos. O que pode explicar o alto acúmulo de N nas folhas, não ocorrendo a redistribuição para os grãos na época da amostragem (pendoamento).

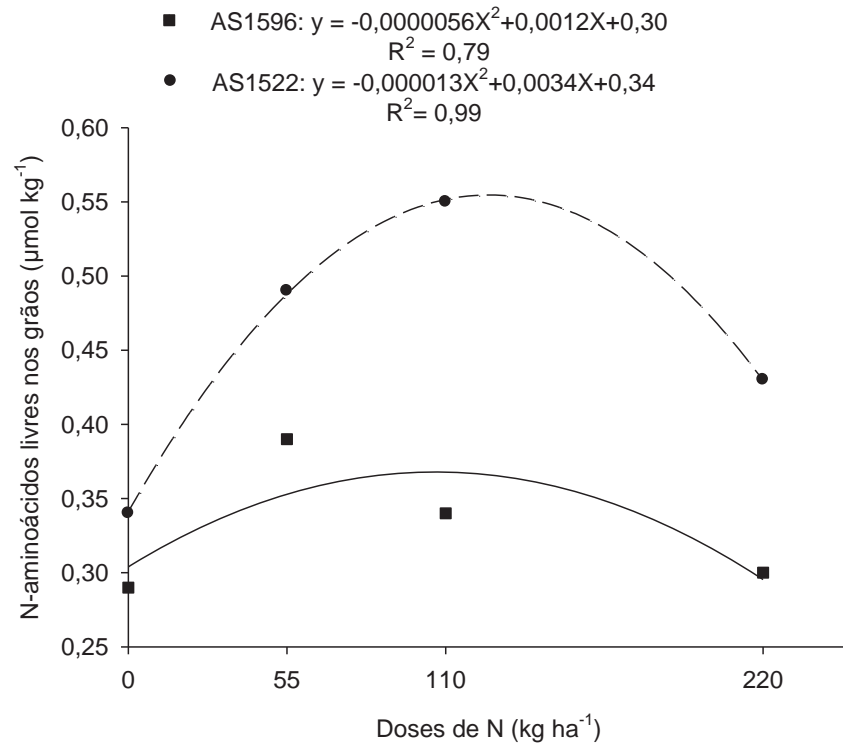
Em relação ao teor de aminoácidos livres totais, houve significância para ambos os genótipos nas diferentes partes da planta. No colmo e nas folhas diagnósticas houve ajuste linear crescente para as plantas AS1596 (Figuras 21 e 22 respectivamente). Já para as plantas AS1522, a melhor dose foi de 131,46 kg ha<sup>-1</sup> para colmo (Figura 21) e 113,14 kg ha<sup>-1</sup> para as folhas diagnósticas (Figura 22). Nos grãos, o melhor modelo foi o quadrático para ambos os genótipos com ponto de máximo nas doses 106,48 kg ha<sup>-1</sup> para as plantas AS1596 e 123,65 kg ha<sup>-1</sup> para as plantas AS1522 (Figura 23).



**Figura 21.** Teor de aminoácidos livres totais no colmo (expresso em μmol de N-amínico por kg de biomassa seca do colmo) em híbridos de milho em função de doses de nitrogênio.



**Figura 22.** Teor de aminoácidos livres totais das folhas (expresso em  $\mu\text{mol}$  de N-amínico por  $\text{kg}$  de biomassa seca das folhas) em híbridos de milho em função de doses de nitrogênio.



**Figura 23.** Teor de aminoácidos livres totais dos grãos ( $\mu\text{mol}$  de N-amínico por kg de biomassa seca dos grãos) em híbridos de milho em função de doses de nitrogênio

Verifica-se superioridade para as plantas AS1522, no transporte de aminoácidos para os grãos em relação às plantas AS1596. Mostrando com isso, maior redistribuição do caule e folhas para os grãos nas plantas AS1522.

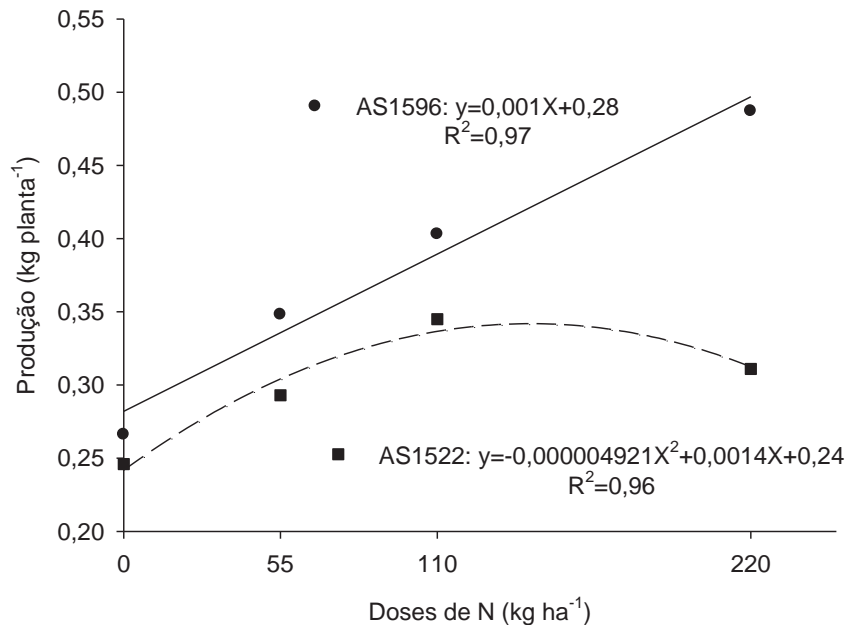
Os aminoácidos livres totais no colmo e folhas foram maiores à medida que se aumentavam as doses para as plantas AS1596 e até certo ponto para as AS1522. Comportamentos estes, semelhantes aos obtidos por SILVA (2005) em plantas de milho e fornecimento de nitrogênio, que apresentavam aumentos nos acúmulos de aminoácidos livres nas folhas e nos colmos, e diferentes dos obtidos por CAZETTA (1997) em tratamentos que apresentavam as menores quantidades de nitrogênio por planta. Tais resultados sugerem que o aumento das doses aplicadas, nas condições

deste experimento, mostrou que as plantas AS1596 e AS1522 são diferentes quanto à utilização e remobilização de N nas diferentes partes.

Este aumento no teor de aminoácidos ocorre devido às plantas não estarem utilizando-o ainda em grandes proporções, pois com a elevada absorção de N e a intensa atividade metabólica favorece a maior formação e acúmulo de aminoácidos (BREDEMEIER & MUNDSTOCK, 2000; BELOW, 2002) no período de pendramento. Após este estágio fenológico, com início a fase reprodutiva, as plantas irão consumir este metabólito para a sua conversão em proteínas (CAZETTA, 1997). Porém, isso não aconteceu para o híbrido AS1596, onde houve acúmulo desses aminoácidos no colmo e folhas, explicando a menor concentração nos grãos em comparação ao híbrido AS1522.

Geralmente, os aproveitamentos de N decrescem com o aumento das doses aplicadas, em vista do suprimento de N exceder as necessidades da cultura e esse não aproveitamento de N têm como conseqüências as perdas de amônia, que aumentam com a dose de aplicação (FERNANDES et al., 2005).

Para produção, a interação genótipos e doses foi significativa (Figura 24), em que o híbrido AS1596 foi superior com média de 0,24 kg planta<sup>-1</sup> (8891 kg ha<sup>-1</sup>). A média das plantas AS1522 foi de 0,18 kg planta<sup>-1</sup> (6666 kg ha<sup>-1</sup>).



**Figura 24.** Produção (expresso em kg de grãos por planta) de híbridos de milho em função de doses de nitrogênio

Observa-se correlação entre as variáveis, pois a produção seguiu a mesma tendência para a maioria destas, mostrando a superioridade do híbrido AS1596 e confirmando com resultados de HANASHIRO et al. (2009).

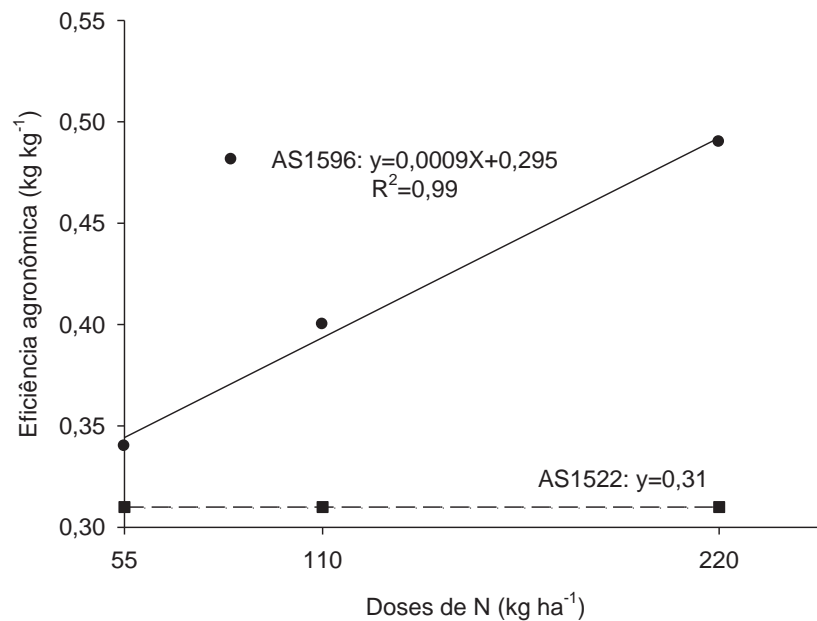
RAMBO et al. (2008), observaram que o rendimento de grãos de milho foi significativamente afetado pelas doses de N aplicadas (0, 50, 100, 200 e 300 kg ha<sup>-1</sup>).

Os dados biométricos e de produção como altura, diâmetro, número de grãos e número de fileiras por espiga não foram significativos.

COSTA (2000) trabalhou com três doses de nitrogênio na semeadura (30, 60 e 90 kg ha<sup>-1</sup> de N) e três doses de nitrogênio em cobertura (30, 60 e 90 kg ha<sup>-1</sup> de N) e demonstrou que as diferenças entre tratamentos também não foram significativas para diâmetro da espiga, tamanho da espiga, número de fileiras por espiga, massa de 100 grãos e altura de plantas.

Os diversos híbridos e variedades exigem quantidades diferentes de nitrogênio, de acordo com seu potencial de produtividade (FERNANDES et al., 2005). BELASQUE JÚNIOR (2000), avaliando doses e épocas de aplicação de nitrogênio nos componentes produtivos de dois híbridos de milho cultivados na “safrinha”, verificou que a resposta da cultura à adubação nitrogenada variou com as condições ambientais e com os híbridos.

Para eficiência agrônômica (Figura 25), observa-se que o híbrido AS1596 mais uma vez foi superior ao AS1522, em que se obteve um ajuste crescente linear com o aumento das doses aplicadas.



**Figura 25.** Eficiência agrônômica (expressa em kg de grãos produzidos por kg de N-total na planta) de híbridos de milho em função de doses de nitrogênio

Como a eficiência agrônômica é definida como a produção econômica obtida (grãos, no caso do milho) por unidade de nutriente aplicado (FAGERIA, 1998), de modo análogo, Além do híbrido AS1596 ser mais produtivo, é também mais eficiente do que AS1522, aproveitando mais a quantidade de nutriente aplicado e convertendo em produção. Isso pode ser explicado pelo fato deste híbrido possuir mecanismos mais

eficientes na absorção e utilização do N, contribuindo para um maior transporte e redistribuição na planta.

### 3.4. CONCLUSÕES

1. O genótipo AS1596 foi superior ao AS1522 em relação à atividade da redutase do nitrato, acúmulo de N nos grãos e biomassa seca do caule e grãos.

2. O teor de aminoácidos livres totais foi a variável que proporcionou as maiores diferenças entre genótipos.

3. Entre as partes da planta, o caule foi o que mais contribuiu para a redistribuição de nitrogênio.

4. O híbrido AS1596 possui maior eficiência agrônômica do que AS1522.

5. O transporte e a redistribuição de N para o grão foram importantes para distinguir os híbridos em mais e menos eficiente.

### 3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRIOLI, I. & CENTURION, J. F. Levantamento detalhado dos solos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 27, Brasília, 1999. **Anais...**, Brasília: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1999. CD ROM.

AUSTIN, R. B.; FORD, M. A.; EDRICH, J. A.; BLACKWELL, R. D. The nitrogen economy of winter wheat. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 88, n. 1, p. 59-167, 1977.

BALIGAR, V. C. & FAGERIA, N. K. Plant nutrient efficiency: forward the second paradigm. In: SIQUEIRA, J.; MOREIRA, F. M. S.; LOPES, A. S.; GUILHERME, L. R. G.;

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal:FUNEP, 2006. 237 p.

BELASQUE JÚNIOR, J. **Doses e épocas de aplicação de nitrogênio sobre dois híbridos de milho cultivados na “safrinha”**. 2000. 80 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.

BELOW, F. E. Fisiologia, nutrição e adubação nitrogenada do milho. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 99, v. 43, p. 7–12, 2002.

BORGES, E. A.; FERNANDES, M. S.; LOSS, A.; SILVA, E. E.; SOUZA, S. R. Acúmulo e remobilização de nitrogênio em variedades de milho. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 3, p. 278-286, 2006.

BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 365-372, 2000.

CANTARELLA, H.; RAIJ, B. van; CAMARGO, C. E. O. Adubação de cereais. In: RAIJ, B. van.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A .M. C. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2.ed. Campinas: Instituto Agronômico, 1997. p.43-50. (IAC. Boletim técnico, 100).

CAZETTA, J. O. **Influência do nitrogênio, fósforo e potássio no metabolismo, no desenvolvimento e na produção de plantas de milho**. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 1997, 121 p. (Livre Docência).

CLARK, R. B. Plant genotype differences in the uptake, translocation, accumulation and use of mineral elements required for plant growth. In: SARIC, M. R.; LONGHMANN, B.

C. (Eds.). **Genetic aspects of plant nutrition**. The Hague: Martinus Nighoff, 1983. p. 49-70.

COELHO, A. M. **Manejo da adubação nitrogenada na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2007. 11 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 96).

COELHO, A. M.; FRANÇA, G. E.; PITTA, G. V. E.; ALVES, V. M. C. HERNANI, L. C. **Cultivo do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. (Sistemas de Produção 2).

COSTA, A. M. **Adubação nitrogenada na cultura do milho (*Zea mays* L.) em sistema de plantio direto**. 2000. 90 f. Dissertação (Mestrado em Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, 2000.

DIDONET, A. D.; LIMA, O. S.; CANDATEN, A. A.; RODRIGUES, O. Realocação de nitrogênio em trigo submetido a inoculação de *Azospirillum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 2, p. 401-411, 2000.

FAGERIA, N. K. Otimização da eficiência nutricional na produção das culturas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 2, p. 6-16, 1998.

FARINELLI, R. & LEMOS, L. B. Produtividade e eficiência agronômica de milho em função da adubação nitrogenada e manejos do solo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 9, n. 2, p. 135-146, 2010.

FERNANDES, F. C. S.; BUZETTI, S.; ARF, O.; ANDRADE, J. A. C. Doses, eficiência e uso de nitrogênio por seis cultivares de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 2, p. 195-204, 2005.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Científica Symposium**, Lavras, v. 6, n. 2, p. 36-41, 2008.

GAVA, G. J. C.; OLIVEIRA, M. W.; SILVA, M. A.; JERÔNIMO, E. M.; CRUZ, J. C. S.; TRIVELIN, P. C. O. Produção de fitomassa e acúmulo de nitrogênio em milho cultivado com diferentes doses de  $^{15}\text{N}$ -uréia. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 851-862, 2010.

HANASHIRO, R. K.; FORNASIERI FILHO, D.; FRIGERI, T.; SCHEER, O.; CARVALHO, J. L.; SOUZA, G. P. F. Desempenho Agrônomo de cultivares de milho no período de safra em Jaboticabal-SP. In: Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 21., 2009, São José do Rio Preto. **Anais...** São José do Rio Preto:CIC/UNESP, 2009. 1 CD-ROM.

MAGALHÃES, P. C. & DURÃES, F. O. M. **Fisiologia da produção de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 10 p. (Circular Técnica 76).

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of hight plants**. San Diego: Academic, 1995. 889 p.

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1997, 285 p. (Boletim Técnico, 100).

RAMBO, L.; SILVA, P. R. F.; STRIEDER, M. L.; DELATORRE, C. A.; BAYER, C.; ARGENTA, G. Adequação de doses de nitrogênio em milho com base em indicadores de solo e de planta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 3, p. 401-409, 2008.

REVOREDO, M. D. **Aspectos metabólicos e nutricionais da planta e produtividade de milho em diferentes densidades populacionais**. 2008. 88 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2008.

SILVA, C. J. **Influência de estresses abióticos na fase reprodutiva do milho**. 2005. 60 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2005.

SILVA, E. C.; BUZETTI, S.; GUIMARÃES, G. L.; LAZARINI, E.; SÁ, M. E. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio na cultura do milho em plantio direto sobre latossolo vermelho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 29, n. 3, p. 353-362, 2005.

VILLELA, F. C. **Efeito de fontes e doses de nitrogênio na produtividade de milho (*Zea mays* L.) cultivado em solo de várzea**. Botucatu, 1999. 63 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 1999.

#### **CAPÍTULO 4: ABSORÇÃO DE NITROGÊNIO POR GRÃOS DE DOIS GENÓTIPOS DE MILHO CULTIVADOS *in vitro***

**RESUMO:** Com objetivo de avaliar a absorção do grão cultivado *in vitro*, foi montado experimento no laboratório de análises químicas e bioquímicas de plantas do Departamento de Tecnologia, Unesp, câmpus Jaboticabal. Três dias após a polinização controlada, foram coletadas espigas de dois híbridos com potencial produtivo distintos e inoculados *in vitro*. Foram cortados explantes com seis óvulos (duas fileiras com três óvulos) e colocados em 100 mL de meio sólido com aminoácidos como fonte de N, em erlenmeyers com capacidade de 250 mL. As doses utilizadas foram 0; 5; 10 e 30 mM de aminoácidos como fonte de N. O experimento foi constituído de oito tratamentos em esquema fatorial 2x4 (dois genótipos x quatro doses) e cinco repetições, desenvolvido em delineamento inteiramente casualizado, permanecendo no escuro e à temperatura de 25 °C por 30 dias. O grão, independente da planta mãe, foi capaz de absorver o nitrogênio. O genótipo AS1596 possui maior capacidade de absorção de N, sendo este mais responsivo às variações nas concentrações de N em relação acúmulo de N nos grãos, quando comparado com os grãos do genótipo AS1522.

**Palavras – chave:** Absorção, aminoácidos, meio de cultura, *Zea mays*

### **Uptake nitrogen by kernels of two maize genotypes cultivated *in vitro***

**SUMMARY:** In order to evaluate the uptake of the kernels grown *in vitro*, was developed an experiment under laboratory conditions in the Department of Technology, UNESP, campus Jaboticabal. Three days after pollination, the ears were collected from two hybrids with different productive potential. Explants were cut with six ovules (two rows of three ovules) and placed on 100 mL of solid medium with amino acids as the nitrogen source, 250 ml in flasks. The N levels used were 0, 5, 10 and 30 mM of N. The experiment consisted of eight treatments in a 2x4 factorial design (two genotypes x four levels) and five replications, conducted in a randomized design, and carried out in the dark at 25 °C for 30 days. The kernel, were capable of absorbing nitrogen and genotype AS1596 has a higher N absorption capacity, which is also more responsive to changes to the relative N concentrations, and N accumulation in the grain, compared to the genotype AS1522.

**Keywords:** Uptake, amino acids, culture medium, *Zea mays*

#### 4.1. INTRODUÇÃO

Algumas técnicas experimentais para alterar o fornecimento de nutrientes incluem a aplicação de fertilizantes (MOLL et al. 1994) e hidroponia (GENTRY & BELOW, 1993). No entanto, essas técnicas têm a desvantagem de que fatores da planta-mãe exercem um controle considerável sobre a assimilação dos grãos. O envolvimento entre os fatores intrínsecos da planta e do ambiente é o que dificulta o estudo dos mecanismos de interação, controle e distribuição de massa seca entre a planta mãe (fonte) e o grão em desenvolvimento (dreno) (WYSS et al., 1991).

O cultivo de grãos *in vitro* contorna esses problemas e minimiza as influências ambientais, permitindo o crescimento de grãos individuais sob condições definidas de temperatura e fornecimento de nutrientes (SINGLETERY & BELOW, 1989). Muitos aspectos do crescimento e metabolismo *in vitro* de grãos são semelhantes aos de grãos *in situ* incluindo sua resposta para assimilar o N (CZYZEWICZ & BELOW, 1990).

O nitrogênio influencia no rendimento de grão principalmente por ele estar relacionado aos mais importantes processos fisiológicos que ocorrem na planta, tais como: fotossíntese, respiração, desenvolvimento e atividade das raízes, absorção iônica de outros nutrientes, crescimento e diferenciação celular e genética (GAVA et al., 2010).

Embora seja bem estabelecido que o suprimento de N aumenta o desenvolvimento reprodutivo e a produção de milho, os mecanismos envolvidos são difíceis de estudar no nível da planta como um todo. Parte desta dificuldade ocorre porque a concentração de N pode afetar tanto o rendimento de grãos como alterar o número ou o peso do grão. Em adição aos componentes de rendimento, a incapacidade de manipular o suprimento de N da planta para o grão, dificulta ainda mais o estudo de como o N afeta o crescimento do grão e rendimento de milho (CZYZEWICZ & BELOW, 1994).

O objetivo desse estudo foi analisar a capacidade de absorção de nitrogênio pelos grãos de dois híbridos, independente de transporte e redistribuição de outras partes da planta de milho.

## **4.2. MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi montado em laboratório do Departamento de Tecnologia, Campus UNESP/Jaboticabal, SP. Para isso foram plantadas em campo, duas parcelas com 4 linhas de 10 m cada com os híbridos de milho com potencial produtivo distintos, somente para coleta de espigas.

As espigas foram cobertas com sacos plásticos, dias antes do aparecimento dos estigmas, para que não houvesse polinização cruzada.

Essas plantas até a polinização foram manejadas conforme recomendações de FORNASIERI FILHO (2007), seguindo todos os tratos culturais como capina para controle de plantas invasoras, irrigação e controle de pragas.

Na polinização foram coletados pólenes de cada genótipo separadamente de modo a garantir a autopolinização. Logo após, as espigas foram cobertas novamente com sacos plásticos.

Após três dias essas espigas foram coletadas como descrito por FALEIROS et al. (1996), e levadas para laboratório de cultura de tecidos do Departamento de Produção Vegetal.

Na capela de fluxo laminar, depois de realizada a assepsia, foram cortados explantes com seis óvulos (duas fileiras com três óvulos) e colocados em 100 mL de meio sólido com aminoácidos como fonte de N, em Erlenmeyers com capacidade de 250 mL, seguindo metodologia de SINGLETARY & BELOW (1990), exceto o tipo de meio de cultivo, em que esses autores utilizaram meio líquido, com modificações nos níveis de N. Esses explantes foram incubados em B.O.D. no escuro em temperatura de

25 °C. A proporção relativa de cada aminoácido no meio de cultura foi descrita de acordo com CULLY et al. (1984).

O meio de cultivo foi composto em  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de: 3750 de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 1500 de  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; 1200 de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 100 de  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ; 100 de  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ; 10 de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 5 de KI; 1 de  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 0,1 de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ; 0,1 de  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  e 50 de Fe-EDTA. O meio ainda continha 0,4  $\text{mg.L}^{-1}$  de tiamina, 0,0044  $\text{mg.L}^{-1}$  de ácido fólico; 1,2  $\text{mg.L}^{-1}$  de niacina, 150  $\text{g.L}^{-1}$  de sacarose e os aminoácidos em  $\text{mg.L}^{-1}$ : Ácido aspártico, 500; Treonina, 198; Serina, 347; Ácido glutâmico, 1761; Prolina, 621; Glicina, 168; Alanina, 476; Cisteína, 160; Valina, 330; Metionina, 117; Isoleucina, 237; Leucina, 1009; Tirosina, 262; Fenilalanina, 387; Lisina, 88; Histidina, 164; Arginina, 150; Asparagina, 300; Glutamina, 292 e Triptofano, 204. O pH foi ajustado para 5,8. Foi adicionado 5,5  $\text{g.L}^{-1}$  de ágar e o meio de cultura foi autoclavado em alta temperatura e pressão por 20 min.

Foram utilizadas as doses 0; 5; 10 e 30 mM de N. O experimento foi constituído de oito tratamentos em esquema fatorial 2x4 (dois genótipos x quatro doses) e cinco repetições, sendo cada parcela composta de um erlenmeyer com cinco grãos, conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Após 30 dias, as sementes então formadas, foram colhidas e analisadas.

As variáveis analisadas foram: biomassa seca dos grãos, teor de nitrogênio total, aminoácidos livres totais, e acúmulo de nitrogênio. Para determinação do nitrogênio utilizou-se o procedimento de Kjeldahl descrito por BATAGLIA et al. (1983). Para teor de aminoácidos livres totais seguiu-se as recomendações de MOORE (1968). A biomassa seca foi obtida através da secagem dos grãos em uma estufa de circulação forçada de ar (60 °C) e o acúmulo de N através da multiplicação do teor de N pela biomassa seca.

Os efeitos dos genótipos e os efeitos das doses de N, assim como as características químicas e bioquímicas foram analisados através de teste F e, quando significativos ( $p \leq 0,05$ ), foi realizado teste de comparação de médias (teste de Tukey a

5%) para o fator qualitativo e análise de regressão linear e polinomial para o fator quantitativo (BANZATTO & KRONKA, 2006). Os dados foram analisados com auxílio do software SISVAR (FERREIRA, 2008).

#### 4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resumo da análise de variância, bem como as causas de variação e o coeficiente de variação encontram-se na Tabela 5.

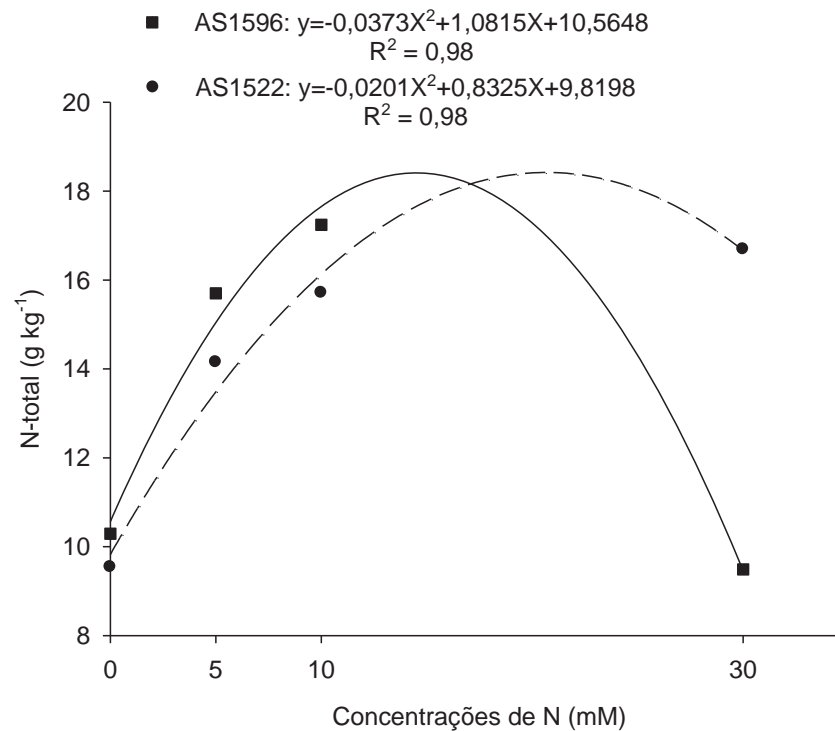
**Tabela 5.** Resumo da análise de variância para Biomassa seca (BSG), teor de nitrogênio total (NTG), acúmulo de nitrogênio (ANG) e teor de aminoácidos livres totais (ALG) em grãos em função de híbridos e concentrações de nitrogênio

Causas de variação	NTG (g kg <sup>-1</sup> )	BSG (g frasco <sup>-1</sup> )	ANG (mg frasco <sup>-1</sup> )	ALG (μmol kg <sup>-1</sup> N-amínico)
<b>Média AS1596</b>	14,02	0,17	2,36	1,39
<b>Média AS1522</b>	13,18	0,13	1,93	1,04
-----Teste de F-----				
<b>Genótipos</b>	2,45 <sup>NS</sup>	34,78**	60,18**	2,90**
<b>Doses</b>	27,32**	61,18**	365,95**	4,67**
<b>G x D</b>	15,55**	15,48**	40,05**	4,50**
<b>C.V. (%)</b>	12,54	14,16	7,87	10,15

\* e <sup>NS</sup> – Significativo e não significativo a 5%, respectivamente.

Observa-se que houve efeito significativo ( $p \leq 0,05$ ) para a interação genótipo e doses para todas as variáveis analisadas.

Para teor de nitrogênio dos grãos (Figura 26), observa-se um ajuste quadrático para ambos os genótipos, sendo as doses 14,5 e 20,71mM, as que proporcionaram maiores teores de N para o genótipo AS1596 e AS1522, respectivamente. Nota-se que os genótipos apresentaram o seu melhor desempenho em doses diferentes, mostrando que AS1596 apresentou um maior teor de N em uma dose menor do que AS1522, sugerindo assim uma maior capacidade de absorção de N pelos grãos do híbrido AS1596.

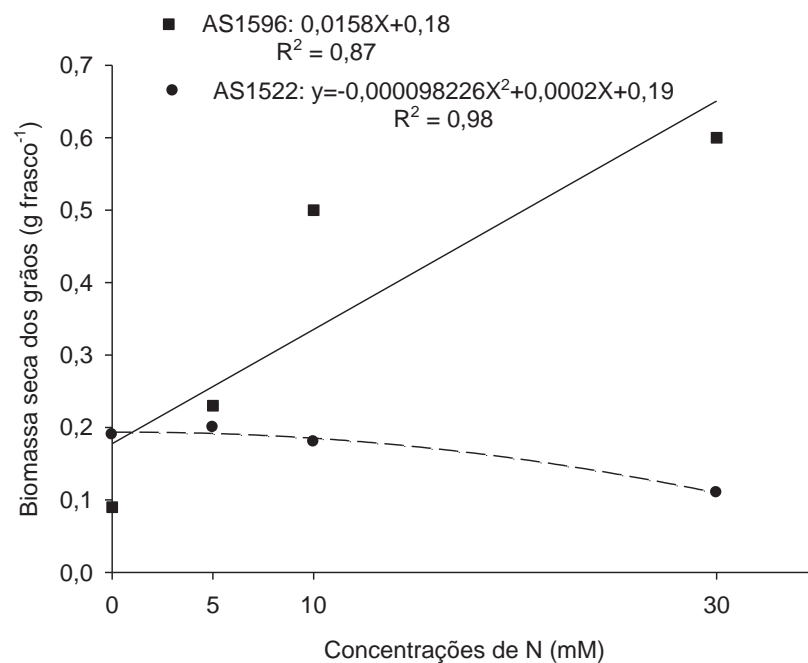


**Figura 26.** Teor de N total de grãos de milho cultivados *in vitro* em função das concentrações de N no meio de cultura.

CZYZEWICZ & BELOW (1994), observaram que em contraste com os grãos *in situ*, houve diferenças no teor de N em que os grãos *in vitro* possuíam um teor menor deste nutriente. Esta diferença pode ser atribuída ao fato de não ser a planta-mãe a fornecedora de N para os grãos, resultando em grãos com menores concentrações de N usando a técnica *in vitro*. Segundo os mesmos autores, essa capacidade de menor

absorção pelos grãos permite detectar diferenças genotípicas na resposta N *in vitro* que seriam difíceis de detectar com plantas no campo. Neste sentido, a capacidade da planta em condições de campo, em aliviar os efeitos da deficiência de N, também poderia mascarar diferenças na utilização de N pelos grãos. Daí a importância de se utilizar o cultivo *in vitro* para controlar essas possíveis variações.

Os grãos do genótipo AS1596 acumularam uma maior biomassa seca de forma linear crescente em função da disponibilidade de N no meio de cultivo quando comparado com os grãos do genótipo AS1522 (Figura 27).

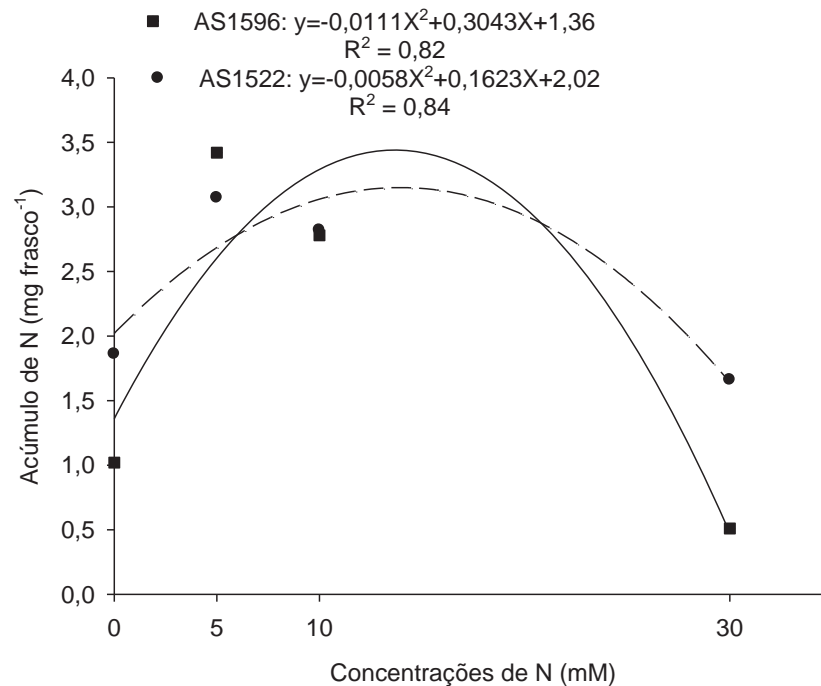


**Figura 27.** Biomassa seca de grãos cultivados *in vitro*, de milho em função das concentrações de N no meio de cultura.

Resultados esses que corroboram com CZYZEWICZ & BELOW (1994), que avaliando a variação genotípica para a absorção de N em grãos de milho cultivados *in vitro*, houve aumento na biomassa seca de grãos com as doses de N fornecidas. Porém, não aconteceu o mesmo com o genótipo AS1522, em que houve tendência

quadrática e com valores de biomassa seca bem menores em relação ao outro genótipo, ou seja, apresentou um baixo acúmulo de matéria seca. A dose que proporcionou maior massa de matéria seca foi 1,02 mM para o genótipo AS1522. A menor biomassa seca para este genótipo pode estar relacionada com uma menor atividade metabólica em decorrência de possuir uma menor eficiência quando comparado com o genótipo AS1596.

Na figura 28 são apresentados os resultados para acúmulo de nitrogênio dos grãos.

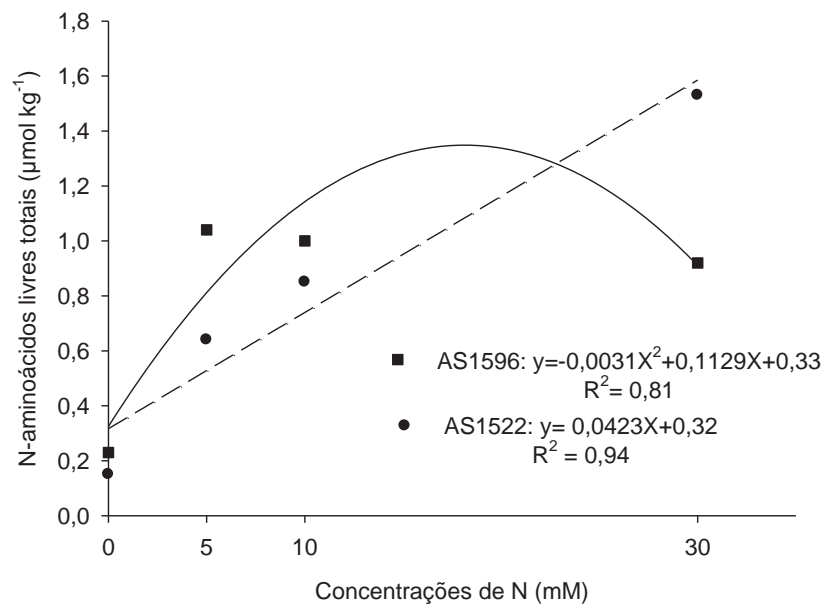


**Figura 28.** Acúmulo de N nos grãos cultivados *in vitro*, de milho em função das concentrações de N no meio de cultura.

Novamente o melhor modelo de regressão para acúmulo de N dos grãos foi o modelo quadrático para ambos os genótipos. Mesmo sendo genótipos distintos, ambos apresentaram seu melhor desempenho aproximadamente no mesmo nível de N (13,71 e 13,99 mM para os genótipos de AS1596 e AS1522, respectivamente). Porém, houve um maior acúmulo nas plantas AS1596. Observa-se que em doses baixas, as plantas

AS1522 acumularam mais que as AS1596 e conforme se aumentou as doses houve uma inversão no acúmulo para esses genótipos. Em doses mais altas, houve um decréscimo maior do genótipo AS1596, sendo este mais sensível ou mais responsivo às variações nas concentrações de N.

O teor de aminoácidos livres totais dos grãos também foi influenciado de maneira quadrática para o genótipo AS1596 e de modo linear crescente para AS1522, cujos desdobramentos estão apresentados na Figura 29.



**Figura 29.** Aminoácidos livres totais (expresso em  $\mu\text{mol}$  de N-amínico por kg de biomassa seca) de grãos cultivados *in vitro*, de milho em função das concentrações de N no meio de cultura.

Para o genótipo AS1522 houve aumento no teor de aminoácidos, no entanto, para o genótipo AS1596 o melhor desempenho se estabeleceu na dose de 18,21 mM de N. Isso significa que o genótipo de baixa eficiência acumulou aminoácidos em maiores concentrações de N, o que não se observou em genótipos de alta eficiência no uso de N, em que a partir do ponto de máximo, os aminoácidos provavelmente foram convertidos em proteínas nos grãos.

Apesar das doses promoverem melhores desempenhos para a maioria das variáveis em torno de 10-20 mM, é relatado que as concentrações de N adequados para o desenvolvimento de grãos em milho seja de 20-50 mM (CZYZEWICZ & BELOW, 1994) e não superior a 72 mM (SINGLETERY & BELOW, 1989).

BELOW et al. (2000), em cultivo *in vitro*, indicam que ao menos uma porção do efeito do N no desenvolvimento dos grãos e no rendimento se deve a uma modificação no metabolismo dos grãos em resposta ao suprimento de N, mostrando que a capacidade de utilização de nitrogênio pode variar com a cultivar e dentro da mesma cultivar quando submetido a diferentes condições nutricionais.

Mostrando com isso, que a técnica de cultivo *in vitro* tem sido uma ferramenta útil e conveniente para estudar a fisiologia de crescimento do grão, uma vez que a concentração de nitrogênio para a assimilação do N e a síntese de proteína pode ser facilmente manipulada com esta metodologia (ZHOU et al., 2006).

#### **4.4. CONCLUSÕES**

1. O grão, independente da planta mãe, foi capaz de absorver e acumular o nitrogênio.
2. O genótipo AS1596 (mais produtivo) possui uma maior capacidade de absorção de N. Sendo este mais responsivo às variações nas concentrações de N em relação acúmulo de N nos grãos.

#### **4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237 p.

BATAGLIA, O. C.; FURLANI, A. M. C.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R.; GALLO, J. R. **Métodos de análise química de plantas**. Campinas: Instituto Agronômico, 1983. 41p. (Boletim Técnico, 78).

BELOW, F. E.; CAZETTA, J. O.; SEEBAUER, J. R. Carbon/Nitrogen interactions during ear and kernel. In: WESTGATE, M.E.; BOOTE, K. (Eds.). **Physiology and modeling kernel set in maize**, Madison: ASA, CSSA, SSSA, 2000. p. 15-24. (Special Publication 29).

CULLY, D. E.; GENGENBACH, B. G.; SMITH, J. A.; RUBENSTEIN, I.; CONNELLY, J. A.; PARK, W. D. Endosperm Protein Synthesis and L-[35S] Methionine Incorporation in Maize Kernels Cultured *in vitro*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 74, n. 2, p. 389-394, 1984.

CZYZEWICZ, J. R. & BELOW, F. E. Genotypic variation for nitrogen uptake by maize kernels grown in vitro. **Crop Science**, Madison, v. 34, n. 4, p. 1003-1008, 1994.

FALEIROS, R. R. S.; SEEBAUER, R. J.; BELOW, F. E. Nutritionally induced changes in endosperm of shrunken-1 and brittle-2 maize kernels grown *in vitro*. **Crop Science**, Madison, v. 36, n. 4, p. 947-954, 1996.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Científica Symposium**, Lavras, v. 6, n. 2, p. 36-41, 2008.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do milho**. FUNEP, Jaboticabal, 2007, 576 p.

GAVA, G. J. C.; OLIVEIRA, M. W.; SILVA, M. A.; JERÔNIMO, E. M.; CRUZ, J. C. S.; TRIVELIN, P. C. O. Produção de fitomassa e acúmulo de nitrogênio em milho cultivado com diferentes doses de <sup>15</sup>N-uréia. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 851-862, 2010.

GENTRY, L. E. & BELOW, F. E. Maize productivity as influenced by form and availability of nitrogen. **Crop Science**, Madison, v. 33, n. 3, p. 491-497, 1993.

MOLL, R. H.; JACKSON, W. A.; MIKKELSEN, R. L. Recurrent selection for maize grain yield: Dry matter and nitrogen accumulation and partitioning changes. **Crop Science**, Madison, v. 34, n. 4, p.874-881, 1994.

MOORE, S. Amino acids analysis: Aqueous dimethylsulfoxide as solvent for the ninhydrin reaction. **The Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 243, n. 23, p. 6281-6283, 1968.

SINGLETERY, G. W. & BELOW, F. E. Growth and composition of maize kernels cultured in vitro with varying supplies of carbon and nitrogen. **Plant Physiology**, Rockville, v. 89, p. 341-346, 1989.

SINGLETERY, G. W. & BELOW, F. E. Nitrogen induced changes in growth and metabolism of developing maize kernels grown *in vitro*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 92, p. 160-167, 1990.

WYSS, C. S.; CZYZEWICZ, J. R.; BELOW, F. E. Source-sink control of grain composition in maize strains divergently selected for protein concentration. **Crop Science**, Madison, v.31, p.761-766, 1991.

ZHOU, Q.; JIANG, D.; DAI, T.; JING,Q.; CAO, W. Regulation of starch and protein synthesis in wheat grains by feeding sucrose and glutamine to detached ears cultured in vitro. **Plant Growth Regulation**, Netherlands, v. 48, p. 247–259, 2006.