

Estudo da eficiência de uso do nitrogênio em variedades locais e melhoradas de milho

NIDIA MAJEROWICZ^{1,3}, JOSÉ M.S. PEREIRA¹, LEONARDO O. MEDICI¹, ODAIR BISON¹, MAURÍCIO B. PEREIRA² e ULYSSES M. SANTOS JÚNIOR¹

(recebido: 29 de novembro de 2000; aceito: 6 de fevereiro de 2002)

ABSTRACT – (Nitrogen use efficiency in local and improved maize varieties). The requirement of nitrogen fertilizers to increase crop productivity risks environmental contamination and increases farmer production costs up to 40% in maize cultivation. The objective of this study was to evaluate physiologic parameters related to nitrogen use efficiency and so contribute to maize breeding programs targeting grain yield in low-N environments. Three maize local varieties (Pedra Dourada, Catetão e Carioca), two improved varieties selected in fertile soil (BR 105 and BR 106) and two improved varieties selected under low N (Nitroflint and Nitrodente) were studied. Plants were supplied with Hoagland nutrient solution with two N levels in the form of nitrate (75%) and ammonium (25%). Low N plants were supplied with 1 mM of N and high N plants with 15 mM of N. The experiment, conducted in greenhouse, was carried out in complete randomized block design with three replicates and 14 factorial treatments. Nitrogen deficiency intensely decreased shoot growth and had a neglectful effect on root system. The biochemical traits studied (pigment contents, nitrate reductase and glutamine synthetase activities) were affected by N supply but did not show variability among genotypes. Dry matter accumulation in nitrogen deficient plants correlated positively (0.86) with the dry matter accumulation in the root system of maize genotypes. Our results suggest that the investigation of root properties may provide important precocious data about nitrogen use efficiency of maize genotypes.

RESUMO – (Estudo da eficiência de uso do nitrogênio em variedades locais e melhoradas de milho). O uso de fertilizantes, além dos riscos de contaminação ambiental, onera o agricultor, chegando a representar 40% dos custos de produção na cultura do milho. O presente estudo visa identificar características fisiológicas relacionadas com o aumento da eficiência do uso do nitrogênio e assim subsidiar programas de melhoramento genético direcionados para obtenção de genótipos de milho produtivos em solos com baixa disponibilidade de nitrogênio. Foram estudadas as variedades de milho Pedra Dourada, Catetão, Carioca (variedades locais, não melhoradas), BR 106, BR 105 (variedades melhoradas em solos férteis), Nitroflint e Nitrodente (variedades melhoradas em solos pobres em N). Plântulas de milho receberam solução nutritiva de Hoagland modificada quanto às fontes de N, sendo utilizadas duas doses de N (1 mM e 15 mM), 75% na forma nítrica e 25% na forma amoniacal. O experimento, composto por um fatorial 2 × 7 (duas doses de N e sete variedades) foi conduzido em casa de vegetação em blocos completos casualizados com três repetições. A deficiência de N afetou de modo muito mais intenso o crescimento das partes aéreas em todos os genótipos. As características bioquímicas estudadas (atividades da nitrato redutase, glutamina sintetase e conteúdo de pigmentos fotossintéticos) foram sensíveis à disponibilidade de N mas não permitiram discriminar diferenças genotípicas. A massa seca das plantas deficientes em N apresentou elevada correlação positiva (0,86) com a massa seca acumulada nas raízes dos diferentes genótipos. Tais resultados sugerem a importância do estudo das características morfológicas e fisiológicas do sistema radicular na seleção de genótipos eficientes quanto ao uso do nitrogênio.

Key words - Nitrogen assimilation, glutamine synthetase, nitrate reductase, photosynthetic pigments, *Zea mays* L.

Introdução

A produtividade das plantas cultivadas tem sido garantida pela utilização de quantidades substanciais de fertilizantes nitrogenados, elevando custos e ocasionando contaminação ambiental. O suprimento

inadequado de nitrogênio geralmente limita a produção do milho (*Zea mays* L.) na maioria dos países tropicais, estimando-se que os fertilizantes nitrogenados correspondam a 40% do custo total de produção desta cultura (Machado 1997). No Brasil, grande parte da produção de milho é realizada por pequenos e médios agricultores e com algum tipo de estresse ambiental (Machado *et al.* 1998a).

A seleção de cultivares próprios para ambientes pobres em nitrogênio (N) tem sido buscada por diversos pesquisadores (Muruli & Paulsen 1981, Denbinski *et al.* 1991, Lafitte & Edmeades 1994a, b, Magalhães & Machado 1995, Bazinger & Lafitte 1997). Lafitte &

1. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia, Departamento de Ciências Fisiológicas, BR 465, Km7 (Km 47 da Antiga Rio-SP), 23890-000 Seropédica, RJ, Brasil.
2. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia, Departamento de Genética, BR 465, Km7 (Km 47 da Antiga Rio-SP), 23890-000 Seropédica, RJ, Brasil.
3. Autor para correspondência: nidia@ufrj.br

Edmeades (1994a) estudaram progênes de irmãos completos de uma população que estava sob seleção em condições de baixa e alta disponibilidade de N. Estes autores constataram correlações elevadas entre a produção e alguns caracteres fisiológicos como a concentração de clorofila nas folhas da espiga, altura da planta, intervalo entre a antese e o aparecimento dos estigmas e a velocidade de senescência.

Existem diversos caminhos possíveis para aumentar a eficiência de uso do nitrogênio (EUN). Um dos mais simples é a diminuição nas doses de adubos para níveis que sejam produtivos e seguros (Fernández *et al.* 1998). Outra possibilidade é o melhoramento genético, que já está gerando milhos produtivos para solos pobres em N (Machado 1997, Santos *et al.* 1998). Ceccarelli (1996) sugeriu que o desenvolvimento de programas de melhoramento locais seria a solução mais viável para o aumento da produção em sistemas agrícolas com baixa utilização de insumos.

O papel das enzimas de assimilação do nitrogênio como característica indicativa da EUN em milho ainda é polêmico. Purcino *et al.* (1990) observaram que materiais com alta atividade da nitrato redutase (NR) 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 (ineficientes - responsivos) tendem a ter baixa atividade da NR. Por outro lado, Machado & Magalhães (1995) verificaram que na variedade Nitrodente a atividade da NR não foi modificada pela seleção para baixos níveis de N e que em populações da cultivar Nitroflint houve uma tendência de diminuição na atividade da NR quando a seleção foi efetuada sob condições de estresse de N. Um estudo comparativo entre 14 híbridos liberados entre as décadas de 1930 e de 1990 revelou que, entre 1930 e 1970, o melhoramento para aumento de produtividade selecionou plantas com estados de ativação da NR crescentes sob baixa disponibilidade de N. A mesma tendência não foi observada entre 1980 e 1990 (Purcino *et al.* 1998).

A variabilidade genética para a atividade da glutamina sintetase (GS) bem como a sua correlação com a EUN têm sido demonstradas em vários estudos (Denbinski *et al.* 1991, Lam *et al.* 1995, Magalhães & Machado 1995, Reggiani *et al.* 1999, Hirel *et al.* 2001). Denbinski *et al.* (1991) verificaram que a seleção para alto teor protéico em milho foi acompanhada pelo incremento da atividade da GS no endosperma. As enzimas NR e GS foram eficientes para discriminar

famílias endogâmicas submetidas a diferentes regimes de N, podendo ser utilizadas como características bioquímicas em programas de seleção genética de milho visando a eficiência de uso do nitrogênio (Machado 1997).

No presente trabalho, estudou-se a variabilidade genética das enzimas nitrato redutase (NR) e glutamina sintetase (GS), o teor de pigmentos fotossintéticos bem como o acúmulo de massa seca em plantas jovens, pertencentes a variedades de milho locais (milho crioulo) e variedades melhoradas em solos férteis e pobres em N.

Material e métodos

Sementes de milho (*Zea mays* L.) das variedades Pedra Dourada, Catetão, Carioca (locais), BR 106, BR 105 (variedades melhoradas em solos férteis), Nitroflint e Nitrodente (variedades selecionadas em solos pobres em N) foram semeadas em vasos opacos contendo 0,3 kg de vermiculita. Os vasos, contendo quatro plantas, foram cobertos com papel alumínio para evitar o aquecimento do substrato e o desenvolvimento de algas. Uma corda, inserida no interior do substrato e em contato com o reservatório sob o vaso, mantinha, por capilaridade, o suprimento contínuo da solução nutritiva. As plantas receberam solução nutritiva de Hoagland (Passos 1996) modificada quanto às fontes de N. Foram utilizadas duas doses de N (1 mM e 15 mM), sendo 75% na forma nítrica e 25% na forma amoniacal. A solução nutritiva era renovada diariamente. A força iônica da solução nutritiva variou com a idade das plantas. Nos dois dias iniciais após o plantio, a solução foi fornecida com $\frac{1}{4}$ de sua força iônica. Nos oito dias seguintes, a solução nutritiva foi mantida com $\frac{1}{2}$ da sua força iônica e após este período a solução passou a ter força iônica total. Aos 21 dias após o plantio, realizou-se a coleta das plantas para a determinação da atividade das enzimas nitrato redutase (método *in vivo*) e glutamina sintetase, pigmentos fotossintéticos e massa seca da parte aérea e da raiz. O experimento foi composto por um fatorial 2×7 (duas doses de N e sete variedades) em blocos completos casualizados com três repetições.

A atividade da NR foi determinada utilizando-se o método *in vivo* descrito por Jaworski (1971), adaptado por Faria (1992). Vinte e um dias após o plantio, coletou-se nove discos uniformes da região mediana das folhas bandeira de três plantas de cada tratamento. As coletas de material para a determinação da NR e da GS foram realizadas entre 9:30 e 11:00 h da manhã. Os valores da atividade da NR foram expressos em $\mu\text{moles de NO}_2^-$ por grama de matéria fresca por hora.

A atividade da GS foi determinada de acordo com Rhodes *et al.* (1975). Amostras de 0,5 g de massa fresca foram obtidas de fragmentos das três folhas mais novas das plantas,

excetuando-se a folha mais interna. As amostras foram maceradas em 5 ml de tampão imidazol 0,1 M (pH = 7,5) contendo ditiotretiol 0,005 M e centrifugadas a 15.000 rpm, a 4 °C, durante 20 minutos. Alíquotas de 150 µl do sobrenadante foram utilizadas para dar início à reação num meio contendo hidroxilamina 0,024 M, MgSO₄ 0,02 M, glutamato 0,3 M e ATP 0,02 M, a 30 °C. Decorridos 45 minutos, as reações foram interrompidas com a adição de 1 ml do reagente contendo cloreto férrico (0,67 M de cloreto férrico, 0,37 M de HCl e ácido tricloroacético 20%). A proteína precipitada foi removida por centrifugação a 5.000 rpm (centrífuga de mesa), por 5 minutos, e a absorbância do sobrenadante foi medida em 540 nm. Todas as determinações foram realizadas em triplicata. A atividade da GS foi expressa em µmoles de glutamil-hidroxamato (GGH) produzido por grama de matéria fresca por minuto (µmoles GGH.g⁻¹ matéria fresca⁻¹.min⁻¹).

A determinação do conteúdo de pigmentos fotossintéticos foi realizada em amostras de 0,5 g de fragmentos de tecidos foliares. Os frascos contendo as amostras foram armazenados a 4 °C até o momento das extrações e determinações espectrofotométricas. Os tecidos foram macerados em acetona pura gelada. O extrato cetônico filtrado foi centrifugado a 11.000 rpm durante 10 minutos, a 4 °C, para clarificação. A absorbância (A) da clorofila *a* foi lida em 661,6 nm, a da clorofila *b* em 644,8 nm e a dos carotenóides em 470 nm. O cálculo da concentração da clorofila *a* (C_a), da clorofila *b* (C_b) das clorofilas *a* e *b* (C_{a+b}) e dos carotenóides (C_c) foi realizado de acordo com as equações definidas em Lichtenthaler (1987). O conteúdo de clorofilas ou carotenóides dos tecidos foi expresso em µg do pigmento por grama de matéria fresca.

O delineamento experimental em blocos foi implantado para viabilizar todas as análises previstas para o dia da coleta. Cada bloco continha todos os tratamentos (7 genótipos e 2 doses de N), sendo repetido três vezes. Os blocos foram implantados em três dias consecutivos com o plantio das sementes no vasos, na casa de vegetação. Os resultados obtidos em cada tipo de determinação foram submetidos à análise de variância (programa MSTAT). As médias foram comparadas pelo teste de Duncan em nível de 5% de significância.

Resultados e Discussão

O acúmulo de massa seca nas plantas inteiras, partes aéreas bem como a razão parte aérea/raiz foram afetados pelas doses de N, em contraste com o observado no sistema radicular (tabela 1). Isto significa que a deficiência de N alterou intensamente o crescimento das partes aéreas, tendo um impacto não significativo sobre o sistema radicular. Todas as características de crescimento apresentaram variação em função do genótipo. O efeito de bloco só não foi evidenciado em relação ao crescimento das partes aéreas. As características bioquímicas só foram modificadas pelas doses de N, tendo apresentado, entretanto, diferenças entre blocos (tabela 1).

A interação N x variedade só foi detectada, em nível de 10%, na razão parte aérea raiz (tabela 1). A variedade Nitroflint apresentou o valor da razão parte aérea/raiz significativamente maior do que o observado nas demais

Tabela 1. Análise de variância do acúmulo de massa seca (g) e de características bioquímicas de sete variedades de milho cultivadas em duas doses de N (1 mM e 15 mM) durante 21 dias. Fontes de variação: blocos correspondem às repetições; N refere-se às concentrações de N; G refere-se aos genótipos estudados; N × G interação entre as concentrações de N e os genótipos; CV% corresponde ao coeficiente de variação.

Fontes de Variação Variável	Blocos	N	G	N × G	CV%
Planta inteira	***	***	***	ns	18,2
Parte aérea	ns	***	**	ns	23,1
Raiz	***	ns	***	ns	22,8
Razão parte aérea/raiz	*	***	***	*	21,6
Clorofila <i>a</i>	**	***	*	ns	19,2
Clorofila <i>b</i>	***	***	ns	ns	23,1
Clorofila <i>a+b</i>	***	***	ns	ns	19,8
Carotenóides	***	***	*	ns	17,9
Atividade da GS	***	***	ns	ns	36,8
Atividade da NR	***	***	ns	ns	26,5

*, **, *** indicam, respectivamente, valores significativos de F a p < 0,1, 0,05 e 0,01.

ns indica valor de F não significativo a p < 0,1.

variedades apenas na dose elevada de N (figura 1). Conforme mostra a tabela 2, a variedade Nitroflint destacou-se em função do elevado crescimento da parte aérea e por apresentar um dos menores valores de massa seca em seu sistema radicular, juntamente com as variedades Catetão e Nitrodente. Tais informações sugerem que a variedade Nitroflint deve ser muito eficiente na absorção de N por unidade de massa radicular, principalmente quando a disponibilidade de N não é limitante. França *et al.* (1999) estudaram o sistema radicular e o influxo de N em duas cultivares de arroz contrastantes quanto ao hábito de crescimento, nível de melhoramento e produtividade. Apesar de terem encontrado maior área radicular na cultivar melhorada, as taxas de acúmulo de N foram similares nas duas cultivares devido à existência de um mecanismo compensatório entre o influxo radicular de N e a produção de área radicular pelas cultivares de arroz. McCullough *et al.* (1994), comparando os híbridos Pride 5 e Pioneer 3902, observaram que este último, menos sensível à deficiência de N, absorvia mais N por unidade de massa de raiz sob deficiência de N. O oposto, entretanto, foi observado quando não existia este estresse.

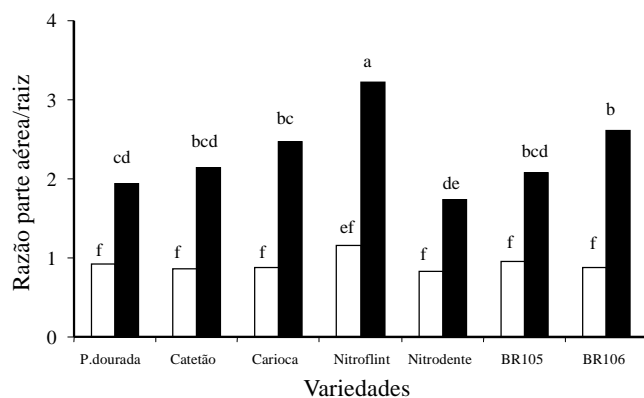


Figura 1. Valores médios da razão parte aérea/raiz em sete variedades de milho cultivadas durante 21 dias com baixa e alta disponibilidade de N (\square 1 mM e \blacksquare 15 mM). Letras iguais indicam diferenças não significativas, a 5% de significância, pelo teste de Duncan.

A massa seca das plantas deficientes em N apresentou uma elevada correlação positiva (0,86) com a massa seca acumulada nas raízes (figura 2). Isto indica que a maior superfície radicular deve ser um caráter importante para o influxo de N sob condições de deficiência. Tais resultados sugerem a importância do estudo do sistema radicular na seleção precoce de genótipos eficientes no uso do nitrogênio. Reggiani *et al.* (1999) encontraram grande variabilidade em

Tabela 2. Valores médios da massa seca acumulada nas plantas, partes aéreas e raízes de sete variedades de milho após 21 dias de cultivo em solução nutritiva de Hoagland ($n = 6$). Letras minúsculas iguais indicam inexistência de diferenças significativas entre genótipos segundo o teste de Duncan a 5 % de significância.

Variedades	Massa seca (g)		
	Planta	Parte aérea	Raiz
Pedra Dourada	1,32 a	0,77 ab	0,56 a
Catetão	0,98 bc	0,57 b	0,41 bc
Carioca	1,23 ab	0,68 ab	0,56 a
Nitroflint	1,23 ab	0,84 a	0,39 bc
Nitrodente	0,90 c	0,56 b	0,34 c
BR 105	1,27 a	0,76 ab	0,51 ab
BR 106	1,39 a	0,86 a	0,53 ab
Média Geral	1,20	0,72	0,47

parâmetros cinéticos de absorção de NO_3^- (K_m , V_{max} , razão V_{max}/K_m) em 40 linhagens autofecundadas de milho. Hirel *et al.* (2001) concluíram que o aumento da produtividade em genótipos de milho foi consequência da maior capacidade de acúmulo de NO_3^- durante fase vegetativa de desenvolvimento e à eficiente remobilização do nitrogênio armazenado durante o enchimento dos grãos.

A variedade BR 105 foi a que apresentou a maior variação no acúmulo de massa seca nas partes aéreas em função da dose de N, apresentando um aumento relativo de 222,2% na massa seca quando a dose de N foi elevada de 1 mM para 15 mM (tabela 3). Isto indica uma grande sensibilidade da parte aérea da variedade BR105 à deficiência de N. McCullough *et al.* (1994), estudando materiais contrastantes quanto à EUN,

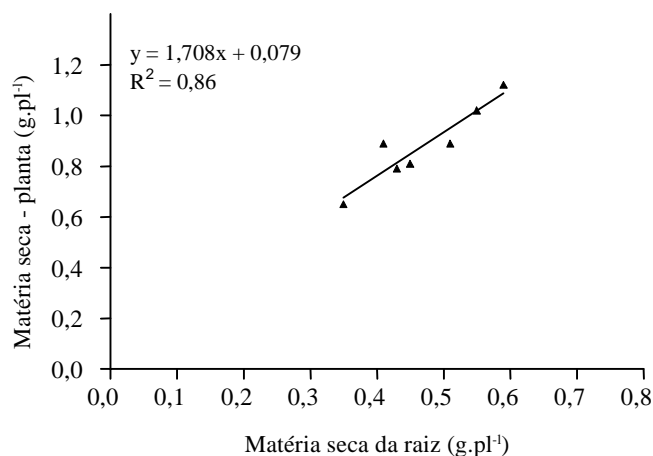


Figura 2. Massa seca das plantas em função da massa seca das raízes em sete variedades de milho deficientes em N (dose de N = 1 mM).

Tabela 3. Acúmulo relativo de massa seca nas partes aéreas e nas plantas inteiras de 7 variedades de milho crescidas em doses contrastantes de N (1 mM e 15 mM) durante 21 dias.

Variedades	Acúmulo relativo/massa seca (%) ¹	
	Parte aérea	Planta
Pedra Dourada	88,7	35,7
Catetão	116,7	42,0
Carioca	155,3	77,5
Nitroflint	150,0	76,4
Nitrodente	173,3	75,4
BR 105	222,2	121,5
BR 106	168,1	73,5
Média Geral	153,5	71,7

¹[(massa seca acumulada 15 mM - massa seca acumulada 1 mM)/ massa seca 1 mM] × 100

observaram que o genótipo mais sensível à deficiência de N foi o que apresentou maior diferença entre os níveis de N. De modo oposto, as variedades Pedra Dourada e Catetão foram as que apresentaram menor variação no acúmulo de massa seca nas partes aéreas em função da dose de N (88,7% e 116,7%, respectivamente).

As médias gerais para a massa seca das partes aéreas em nível baixo e alto de N foram, respectivamente, 0,41 e 1,03 g.planta⁻¹. Estas últimas foram utilizadas para dividir o diagrama da figura 3 em quadrantes, de acordo com Fox (1978). Os quadrantes à direita do diagrama incluem os genótipos responsivos (R), ou seja, variedades que apresentam um aumento no acúmulo de massa seca em resposta ao aumento da disponibilidade de N. Os quadrantes à esquerda incluem os genótipos com menor potencial de resposta mesmo na presença de níveis de N elevados, denominados não responsivos (NR). No mesmo diagrama, as variedades cujas médias de massa seca das partes aéreas são inferiores à média geral sob baixo N são classificadas como ineficientes, enquanto que as variedades com médias superiores são classificadas como eficientes. De acordo com estes critérios, as variedades estudadas poderiam ser classificadas da seguinte forma: BR 106 e Nitroflint seriam eficientes e responsivas (ER); BR 105 seria ineficiente e responsiva (IR), Catetão, Carioca e Nitrodente seriam ineficientes e não responsivos e a variedade Pedra Dourada seria apenas eficiente, tendo valor médio idêntico à média geral das variedades crescidas na dose elevada de N. Somente os resultados das variedades Carioca e Nitrodente encontram-se em desacordo com estudos anteriores que as caracterizaram como genótipos eficientes no uso do nitrogênio. Ao

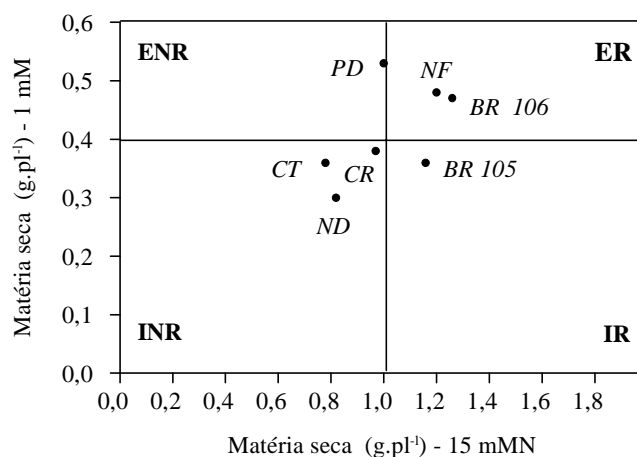


Figura 3. Diagrama relacionando o acúmulo de massa seca nas partes aéreas de plantas cultivadas na dose elevada de N (15 mM) com o acúmulo de massa seca nas partes aéreas de plantas cultivadas na dose baixa de N (1 mM) durante 21 dias. CT = Catetão; CR = Carioca; ND = Nitrodente; NF = Nitroflint; PD = Pedra Dourada. ENR = eficiente não responsiva; ER = eficiente responsiva; INR = ineficiente não responsiva; IR = ineficiente responsiva.

mesmo tempo, o comportamento da variedade Catetão é consistente com estudos que demonstram a sua baixa eficiência de uso do nitrogênio (Machado 1997, Machado *et al.* 1998a, b).

Para ser assimilado pelas plantas, o NO₃⁻ precisa ser reduzido a NH₃. A enzima nitrato redutase (NR) catalisa a redução do nitrato para nitrito e, na sequência, a nitrito redutase (NiR) catalisa a redução do nitrito gerando NH₃ (Lea *et al.* 1990). A incorporação do NH₃ em moléculas orgânicas, seja ela gerada pela redução de NO₃⁻ ou por outros processos metabólicos (p. ex.: absorção de NH₄⁺ do solo, fotorrespiração, catabolismo de aminoácidos), é catalisada pela glutamina sintetase, numa reação dependente de ATP (Lea *et al.* 1990).

As atividades da GS e da NR foliares apresentaram diferenças entre blocos e entre doses de nitrogênio, mas não diferiram entre genótipos (tabela 1). A atividade média da GS foliar em plantas bem supridas com N foi 67,6% maior do que nas plantas deficientes em N (tabela 3). Já o aumento da atividade da NR, em resposta à elevação da dose de N, foi mais intenso, apresentando, em média, valores 134,2% maiores nas plantas adequadamente supridas com N (tabela 3). Por outro lado, Purcino *et al.* (1998), utilizando ensaios *in vitro* da NR, verificaram que 14 genótipos de milho atingiam atividades similares da NR em 1,6 mM ou 16 mM de N. Ou seja, naquelas condições experimentais, a maioria dos híbridos atingiu valores máximos da NR ao

Tabela 4. Características bioquímicas foliares de plantas de milho crescidas em duas doses de N contrastantes. O valores são médias de todos os genótipos (n = 21). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre doses de N segundo o teste de Duncan a 5 % de significância. GS em $\mu\text{moles de GGH.g}^{-1}$ matéria fresca.min⁻¹; NR em $\mu\text{moles de NO}_2^{\cdot-}.\text{g}^{-1}$ matéria fresca.h⁻¹. Pigmentos fotossintéticos em $\mu\text{g.g}^{-1}$ matéria fresca. Médias seguidas de letras diferentes comparam valores entre colunas que diferem em nível de 5% pelo teste de F.

Características	Doses de N	
	1 mM	15 mM
GS	0,151 b	0,253 a
NR	3,8 b	12,7 a
Clorofila a	893,3 b	1410,4 a
Clorofila b	444,5 b	588,5 a
Clorofila a+b	1337,8 b	1998,9 a
Carotenóides	195,5 b	283,0 a

receberem 1,6 mM de NO_3^- . As diferenças genotípicas quanto à produção de grãos foram assim atribuídas às diferenças na capacidade de absorção de NO_3^- do solo. Machado (1997) verificou que as atividades da GS e da NR não foram eficientes para discriminar variedades de polinização aberta, previamente caracterizadas como contrastantes quanto à eficiência de uso do nitrogênio (Nitroflint, eficiente e Catetão, ineficiente). O mesmo autor, entretanto, mostrou que as duas enzimas de assimilação do N podem discriminar famílias endogâmicas S₁ cultivadas em diferentes regimes de N. O estado de ativação da NR, em híbridos deficientes em N, mostrou uma correlação quadrática com o ano de liberação do híbrido entre as décadas de 1930 e 1970 (Purcino *et al.* 1998). Neste mesmo período, a atividade da PEP carboxilase bem o estado de ativação da sacarose fosfato sintase (SPS), enzimas importantes do metabolismo do carbono, também aumentaram, indicando que a elevação da atividade das três enzimas contribuiu para o aumento de produtividade dos híbridos daquele período (Purcino *et al.* 1998).

O teor de clorofila foliar representa uma variável confiável para estimar a aquisição de N por plantas de trigo crescidas em diferentes condições ambientais (Shadchina & Dmitrieva 1995). O conteúdo de pigmentos fotossintéticos, do mesmo modo que as demais variáveis bioquímicas, apresentou diferenças significativas apenas para doses de N e entre blocos. Plantas bem supridas com N apresentaram teores de pigmentos fotossintéticos superiores ao das plantas deficientes em N (tabela 3). Portanto, o teor foliar de

pigmentos fotossintéticos foi suficiente para diagnosticar diferenças no estado nutricional das plantas em função da dose de N, mas não foi eficiente para detectar diferenças entre as variedades, nas condições experimentais utilizadas (tabela 3). Estes dados estão de acordo com o trabalho de Bänziger & Lafitte (1997) onde também o teor de clorofila indicou a variação ambiental, mas não discriminou os materiais genéticos contrastantes. Também no trabalho de Lafitte & Edmeades (1994a) o teor de clorofila não foi indicado para auxiliar na seleção uma vez que não apresentou correlação genética com a produção sob baixo N, embora tenha apresentado elevada correlação fenotípica. Por outro lado no trabalho de McCullough *et al.* (1994), ocorreu interação significativa genótipo x nitrogênio. O híbrido eficiente apresentou maior teor de clorofila que o ineficiente no nível baixo de N, tendo ocorrido o inverso no nível elevado de N.

Os parâmetros bioquímicos estudados (NR, GS, pigmentos fotossintéticos) foram sensíveis à disponibilidade de N mas não permitiram discriminar diferenças genotípicas. Entretanto, os resultados obtidos indicam que estudos sobre as propriedades do sistema radicular poderão oferecer informações relevantes e precoces sobre a eficiência de uso do nitrogênio em genótipos de milho.

As análises baseadas no crescimento (acúmulo de massa seca nas partes aéreas, raízes e na planta) confirmam resultados de estudos anteriores que recomendam as variedades Nitroflint, BR 106 e Pedra Dourada para solos férteis ou pobres em N; confirmam ainda o baixo potencial produtivo bem como a baixa eficiência de uso do N da variedade Catetão (Machado *et al.* 1998a). As variedades Carioca e Nitrodente, entretanto, não tiveram bom desempenho neste estudo, principalmente sob deficiência de N, ao contrário do apontado em pesquisas anteriores. Isto indica a necessidade de cruzamento de informações obtidas com plantas jovens e plantas adultas no campo. A variedade BR 105 mostrou-se adequada somente para solos com boa disponibilidade de N.

Agradecimentos - Os autores agradecem à FAPERJ pelo financiamento desta pesquisa. Ao CNPq pelas Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) a José Marcos S. Pereira e Odair Bison. Aos estudantes de graduação, estagiários da área de Fisiologia Vegetal, Sidarta Marques de Souza Pinto, Daniele Cristina Costa Sabino, Leandro Ferreira, Viviane Fernandes Moreira, Rejane Escrivani Guedes e Azélio Vieira Passos pelo valioso auxílio na condução do experimento.

Referências bibliográficas

- BÄNZIGER, M & LAFITTE, H.R. 1997. Efficiency of secondary traits for improving maize for low-nitrogen target environments. *Crop Science* 37:1110-1117.
- CECCARELLI, S. 1996. Adaptation to low/high input cultivation. *Euphytica* 92:203-214.
- DENBINSKI, E., RAFALSKI, A. & WISNIEWSKA, I. 1991. Effect of long-term selection for high and low protein content on the metabolism of aminoacids and carbohydrate in maize kernel. *Plant Physiology and Biochemistry* 29:549-557.
- FARIA, C.R.S.M. 1992. Atividade da nitrato redutase em folhas de *Pterodon pubescens* (Leguminosae) e *Oureatea hexasperma* (Ochnaceae) crescendo em condições naturais do cerrado. Dissertação de mestrado, Universidade de Brasília, Brasília.
- FERNANDÉZ, J.E., MURILLO, J.M., MORENO, F., CABRERA, F. & FERNANDÉZ-BOY, E. 1998. Reducing fertilization for maize in southwest Spain. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 29:2829-2840.
- FOX, R.H. 1978. Selection for phosphorus efficiency in corn. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 9:13-37.
- FRANÇA, M.G.C., ROSSIELLO, R.O.P., ZONTA, E., ARAÚJO A.P. & RAMOS, F.T. 1999. Desenvolvimento radicular e influxo de nitrogênio em duas cultivares de arroz. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 10:1845-1853.
- HIREL, B., BERTIN, P., QUILLERÉ, I., BOURDONCLE, W., ATTAGNANT, C., DELLAY, C., GOUY, A., CADIOU, S., RETAILLIAU, C., FALQUE, M. & GALLAIS, A. 2001. Towards a better understanding of the genetic and physiological basis for nitrogen use efficiency in maize. *Plant Physiology* 125:1258-1270.
- JAWORSKI, E.G. 1971. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 43:1274-1279.
- LAFITTE, H.R. & EDMEADES, G.O. 1994a. Improvement for tolerance to low soil nitrogen in tropical maize. I Selection criteria. *Field Crop Research* 39:1-4.
- LAFITE, H.R. & EDMEADES, G.O. 1994b. Improvement for tolerance to low nitrogen in maize. II Grain yield, biomass production, and N accumulation. *Field Crop Research* 39:15-25.
- LAM, H.-M., COSCHIGANO, K., SCHULTZ, C., MELO-OLIVEIRA, R., TJADEN, G., OLIVEIRA, I., NGAI, N., HSIEH, M.-H. & CORUZZI, G. 1995. Use of arabidopsis mutants and genes to study amide amino acid biosynthesis. *The Plant Cell* 7:887-898.
- LEA, P.J., ROBINSON, S.A. & STEWART, G.R. 1990. The enzymology and metabolism of glutamine, glutamate, and asparagine. *In* The biochemistry of plants (B.J. Mifflin & P.J. Stewart, eds.). Academic Press, London, v.16, p.121-159.
- LICHTENTHALER, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *In* Methods in enzymology (L. Packer & R. Douce, eds.). Academic Press, London, v.148, p.350-382.
- MACHADO, A.T. 1997. Perspectiva do melhoramento genético em milho (*Zea mays* L.) visando eficiência na utilização do nitrogênio. Tese de doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- MACHADO, A.T. & MAGALHÃES, J.R. 1995. Melhoramento de milho para uso eficiente de nitrogênio sob condições de estresse. *In* Anais do Simpósio Internacional sobre Estresse Ambiental: o milho em perspectiva (A.T. Machado, R. Magnavaca, S. Pandey & A.F. Silva, eds.). Belo Horizonte, p.321-343.
- MACHADO, A.T., MACHADO, C.T.T. & FURLANI, P.R. 1998a. Avaliação e caracterização de variedades locais de milho para condições adversas de ambiente. *In* Milho Crioulo: conservação e uso da biodiversidade (A.C. Soares, A.T. Machado, B. M. Silva & J.M. von der Weid, eds.). Rede Projetos Tecnologias Alternativas, Rio de Janeiro, p.151-178.
- MACHADO, A.T., PEREIRA, M.B., PEREIRA, M.E., MACHADO, C.T.T. & MEDICI, L.O. 1998b. Avaliação de variedades locais e melhoradas de milho em diferentes regiões do Brasil. *In* Milho Crioulo: conservação e uso da biodiversidade (A.C. Soares, A.T. Machado, B.M. Silva & J.M. von der Weid, eds.). Rede Projetos Tecnologias Alternativas, Rio de Janeiro, p.93-106.
- MAGALHÃES, J.R. & MACHADO, A.T., 1995. Biochemical parameters selecting maize for nitrogen assimilation efficiency under stress conditions. *In* Anais do Simpósio Internacional sobre Estresse Ambiental: o milho em perspectiva (A.T. Machado, R. Magnavaca, S. Pandey & A.F. Silva, eds.). Belo Horizonte, p.346-367.
- MCCULLOUGH, D.E., GIRARDIN, P.H., MIHAJLOVIC, M., AGUILERA, A. & TOLLENAAR, M. 1994. Influence of N supply on development and dry matter accumulation of old and a new maize hybrid. *Canadian Journal of Plant Science* 74:471-474.
- MURULI, B.I. & PAULSEN, G.M. 1981. Improvement of nitrogen use efficiency and its relationship to other traits in maize. *Maydica* 26:63-73.
- PASSOS, L.P. 1996. Métodos analíticos e laboratoriais em fisiologia vegetal. EMBRAPA, Coronel Pacheco.
- PURCINO, A.A.C., ARELLANO, C., ATHWAL, G.S. & HUBER, S.C. 1998. Nitrate effect on carbon and nitrogen assimilating enzymes of maize hybrids representing seven eras of breeding. *Maydica* 43:83-94.
- PURCINO, A.A.C., MAGNAVACA, R., MACHADO, A.T., MARRIEL, I.E. & MAGALHÃES, J.R. 1990. Redutase do Nitrato em genótipos antigos e modernos de milho. *In* I Simpósio Brasileiro sobre Nitrogênio em Plantas. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, p.491-492.

- REGGIANI, R., AURISANO, N., MATTANA, M. & BERTANI, A. 1999. Genotypic variation and relationship among nitrogen assimilation traits in *Zea mays*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 11:123-128.
- RHODES, D., RENDON, G.A. & STEWART, G.R. 1975. The control of glutamine synthetase level in *Lemna minor* L. *Planta* 125:201-211.
- SANTOS, M.X., GUIMARÃES, P.E.O., PACHECO, C.A.P., FRANÇA, G.E., PARENTONI, S.N., GOMES-E-GAMA, E.E. & LOPES, M.A. 1998. Melhoramento intrapopulacional no Sintético Elite NT para solos pobres em nitrogênio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 33:55-61.
- SHADCHINA, T.M. & DMITRIEVA, V.V. 1995. Leaf chlorophyll content as a possible diagnostic mean for the evaluation of plant nitrogen uptake from soil. *Journal of Plant Nutrition* 18:1427-1437.