

ACÚMULO E REMOBILIZAÇÃO DE NITROGÊNIO EM VARIEDADES DE MILHO

Eliane de Almeida Borges

¹Prof. Departamento de Química-UFRRJ. BR 465, km 07, Caixa Postal 74505, CEP: 23890-000. Fone: (021) 92956454. Seropédica/RJ. E-mail: eliane bq@superig.br

Manlio Silvestre Fernandes

²Prof. Departamento de Solos-UFRRJ. BR 465, km 07, Caixa Postal 74505, CEP: 23890-000. Fone: (021) 37873772. Seropédica/RJ. E-mail: manlio@ufrj.br

Arcângelo Loss

⁴Mestrando em Ciência do Solo-UFRRJ. BR 465, km 07, Caixa Postal 74505, CEP: 23890-000. Seropédica/RJ. E-mail: arcangeloloss@yahoo.com.br. Fone: (021) 94366191

Edmilson Evangelista da Silva

⁵Doutorando em Fitotecnia-UFRRJ. BR 465, km 07, Caixa Postal 74505, CEP: 23890-000. Fone: (021)37878768. Seropédica/RJ. E-mail: evangerural@yahoo.com.br

Sônia Regina de Souza

¹Prof. Departamento de Química-UFRRJ. BR 465, km 07, Caixa Postal 74505, CEP: 23890-000. Fone: (021) 92956454. Seropédica/RJ. E-mail: eliane bq@superig.br

RESUMO - O comportamento de duas variedades de milho em relação ao acúmulo e remobilização de nitrogênio, na fase vegetativa do desenvolvimento da planta, foi avaliado pela atividade da enzima nitrato redutase (NR), e dos teores de NO_3^- do N-amino e de açúcares solúveis nas folhas, bainhas e colmos das plantas. As variedades foram selecionadas em função de sua importância agrícola: o BRS 4157 (Sol da Manhã), por ser uma variedade melhorada, utilizada na agricultura familiar e o BRS 1010, um híbrido simples utilizado na agricultura extensiva. As plantas foram cultivadas sob casa de vegetação em vasos contendo Argissolo Vermelho-Amarelo submetidos a dois níveis de N-NO_3^- (130 e 1300 mg pote⁻¹ de N). As coletas foram feitas nos dois primeiros estádios de desenvolvimento vegetativo, aos 32 e 60 dias após germinação (DAG). A variedade descrita na literatura como eficiente no uso de nitrogênio – Sol da Manhã – mostrou adaptação à condição de restrição de nitrogênio por sua maior capacidade de acumular NO_3^- nas folhas no primeiro estágio de desenvolvimento vegetativo e remobilizá-lo no segundo estágio, apresentando um maior teor de N-amino nas folhas e bainhas do que o híbrido simples BRS 1010 descrito como de alto potencial de produção, quando sob menor dose de nitrogênio.

Palavras-chave: BRS 1010, *Zea mays* L., Sol da Manhã (BRS 4157), Nitrato Redutase.

NITROGEN ACCUMULATION AND REMOBILIZATION IN CORN VARIETIES

ABSTRACT - The physiologic activity of two corn varieties regarding nitrogen accumulation and remobilization in the vegetative phase was evaluated by the activity of the nitrate reductase enzyme (NR), and NO_3^- contents of the N-amino and soluble sugars in leaves, hems and stems of the plants. The varieties were selected according to their agricultural characteristics: BRS 4157 (Sol da Manhã), an improved variety used in familial agriculture and BRS 1010, an exotic variety, a simple hybrid used in extensive agriculture. The plants were cultivated in a greenhouse, in pots containing a Red-Yellow Argissol submitted to two doses of N-NO_3^- (130 and 1300 mg of N per pot). Harvests were made at the first two stages of the vegetative development, at 32 and 60 days after germination (DAG). The Sol da Manhã variety, efficient in nitrogen use, adapted itself to the condition of low nitrogen due to its higher capacity in accumulating NO_3^- in the leaves in the first development stage, and remobilizing it during the second stage. This resulted in a higher free amino-N concentration in the leaves and hems when compared to the simple hybrid BRS 1010, described as a high potential in productivity under low nitrogen conditions.

Keywords: *Zea mays* L., Sol da Manhã (BRS 4157), BRS 1010, nitrate reductase.

INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L) é uma das espécies vegetais mais estudadas geneticamente e,

conseqüentemente, a herança de inúmeros caracteres e o seu genoma são bem conhecidos. A importância econômica, a sua estrutura genética,

o tipo de reprodução, a facilidade para realizar polinizações manuais e a possibilidade de gerar diferentes tipos de progênies, são fatores que contribuem decisivamente no sentido de tornar o cereal um modelo para as espécies alógamas (NASS & PATERNIANI, 2000).

A absorção de N em milho, em relação à percentagem total, oscila em torno de 8% no 1º mês (primeiro estágio), 50% no 2º mês (segundo estágio), 28% no 3º mês e 14% no 4º mês (MALAVOLTA, 1981). Assim, a fertilização deve obedecer à exigência da fenologia da planta aumentando o rendimento da cultura e reduzindo a agressão ao meio ambiente.

A avaliação da capacidade de absorção e da remobilização do nitrogênio em cada estágio do desenvolvimento da planta fornece dados importantes para a avaliação de sua eficiência na utilização desse nutriente e pode ser utilizada no planejamento de uma agricultura ecológica e economicamente mais eficiente. Estudos agrônomicos realizados com espécies de milho têm demonstrado que diversos grupos de genes são diferencialmente expressos em resposta à quantidade de N fornecida à planta. Nesses estudos, a análise das características fisiológicas, como conteúdo de nitrato, atividade das enzimas nitrato redutase (NR) e glutamina sintetase (GS), mostraram uma variação genotípica e uma correlação positiva entre o conteúdo de nitrato, a atividade da GS, a produção e os seus componentes. Entretanto, a atividade da NR foi negativamente correlacionada. Assim, o aumento de produtividade em genótipos de milho pode ser atribuído a sua habilidade de acumular nitrato em suas folhas durante o crescimento vegetativo e a eficiência na remobilização do nitrogênio armazenado nos vacúolos durante o enchimento dos grãos (HIREL *et al.*, 2001).

Recentes pesquisas que tiveram como objetivo avaliar a eficiência do uso de nitrogênio em milho (*Zea mays L.*), indicaram ser possível detectar variações genéticas e selecionar novos genótipos que mostrem aumento ou diminuição da atividade de várias enzimas envolvidas nas vias de assimilação de nitrogênio (HIREL *et al.*, 2001). Estes mesmos autores estudaram as bases genéticas e fisiológicas na eficiência do uso de nitrogênio em milho correlacionaram a assimilação primária 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 inorgânico, mas também devido à melhor eficiência no uso

do nitrogênio como resultado de uma remobilização mais eficiente deste nutriente.

Portanto, a produção de cultivares de milho pode ser melhorada pela seleção de genótipos com alta capacidade de armazenar NO_3^- nas folhas e baixa capacidade de reduzir nitrogênio inorgânico durante a fase vegetativa do desenvolvimento da planta. Pelo exposto, objetivou-se avaliar a eficiência no acúmulo e remobilização do N-NO_3^- em condição de alta e baixa disponibilidade desse nutriente, pela determinação da atividade da enzima nitrato redutase (NR) e pelo conteúdo de N-NO_3^- , N-amino e açúcar solúvel da parte aérea de dois genótipos de milho: BRS 4157 (Sol da Manhã) e BRS 1010.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Solos, do Instituto de Agronomia da UFRRJ, Seropédica, RJ, nos meses de abril a junho de 2003 e realizado com duas variedades de milho, ambas de ciclo precoce e produzindo grãos com textura e cor de alto valor comercial. As coletas foram realizadas nos dois primeiros estágios de desenvolvimento vegetativo das plantas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em um esquema fatorial 2x2, composto por duas variedades e duas doses de N-NO_3^- em quatro repetições.

A variedade BRS 4157 (Sol da Manhã – NITRO FLINT) foi obtida no Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia (EMBRAPA - CNPAB) – RJ, caracterizando-se como uma variedade de ciclo precoce, de grãos duros e semi-duros, de endosperma alaranjado com segregação para branco e predomínio dos germoplasmas Cateto, Eto e Duros do Caribe. Foi formada a partir de 36 populações das Américas Central e Sul, adaptada a solos de baixa fertilidade natural e eficiente no uso de nitrogênio (MACHADO, 1997). Já o híbrido simples BRS 1010 foi fornecido pela Brasmilho REP LTDA-GO, que em geral é mais produtivo que os demais tipos de híbridos pelo fato de seu genótipo exibir maior heterose e também menor variabilidade entre plantas e espigas. É bem aceito no mercado por possuir em suas características agrônomicas um alto potencial produtivo e uma boa sanidade (é resistente à *Phaeosporia* e tem moderada resistência à mancha de *Cercospora*). Também é uma planta de ciclo precoce e de grãos semiduros e

alaranjados, que vêm sendo preferidos pelo mercado.

As sementes de milho (quatro por vaso) foram colocadas para germinar em vasos plásticos, contendo 10 kg de terra fina seca ao ar, peneirada em malha de 4 mm, retirada do horizonte superficial (0 – 20 cm) de um solo Argissolo Vermelho-Amarelo, coletado em Seropédica - Rio de Janeiro, sendo irrigados diariamente.

Em torno dos 20 dias após germinação (DAG) foi realizado o desbaste, mantendo-se duas plantas por vaso. Em seguida foi aplicada, em cada vaso, uma solução de CaNO_3^- em dois tratamentos de N de 1,43 e 14,30 mM de N-NO_3^- , durante 7 dias, até dose final de 130 mg N-NO_3^- vaso⁻¹ e 1300 mg N-NO_3^- vaso⁻¹. Ao final, cada vaso contendo duas plantas representou uma repetição.

Neste experimento apenas a parte aérea de cada planta foi utilizada. A primeira coleta foi realizada no mês de maio de 2003, aos 32 (DAG) durante o primeiro estágio do ciclo vegetativo, quando as plantas apresentavam seis folhas. A segunda coleta foi realizada no mês de junho de 2003, aos 60 DAG, no segundo estágio de desenvolvimento, quando as plantas apresentavam de nove a dez folhas (FANCELLI, 2001).

As coletas foram realizadas em torno das nove horas da manhã em casa de vegetação e o material acondicionado em sacos plásticos em recipiente com gelo. Posteriormente, o material foi transportado para o laboratório e realizadas as análises.

No laboratório, a parte aérea das plantas de cada vaso (representando uma repetição) foram separada nas frações: folhas, bainhas e colmos e cada uma pesada separadamente para o registro da massa fresca. De cada uma das frações foi separado o terço médio e deste pesou-se 0,2 g em duplicata para a determinação da atividade da enzima Nitrato Redutase (JAWORSKI, 1971) e 1 g em duplicata, que foi acondicionado em 25 mL de etanol a 80% para extração por partição com clorofórmio da fração contendo nitrato, amônio, N-amino e açúcares solúveis (FERNANDES, 1983).

O material restante foi seco em estufa de circulação de ar forçado, a 60 °C, até a massa constante para a determinação da massa seca e para a digestão sulfúrica, que é a etapa preliminar na determinação do N-total (TEDESCO, 1983).

Os 200 mg de massa fresca foram pesados em duplicata de cada fração da parte aérea e foram

incubados em tubos de ensaio com 5 mL da solução tampão fosfato (0,1 M; pH 7,5), n-propanol e KNO_3 . Os tubos foram cobertos com papel alumínio e colocados em banho-maria a 30 °C, por 30 minutos. Após a incubação, a 4 mL de cada amostra adicionaram-se 0,3 mL de sulfanilamida a 1 % e 0,3 mL de n-naftil-etilendiamino a 0,02 %. Após 20 minutos de repouso foram adicionados 4 mL de água e a solução homogeneizada. A atividade da enzima foi calculada a partir da leitura de absorção em 540 nm, contra uma curva padrão de NaNO_3 (0, 5, 10, 20, 25, 40 e 50 mM).

As amostras de 1 g (em duplicata) de cada segmento da parte aérea foram separadas e mantidas em solução de etanol a 80% v/v, para extração alcoólica (FERNANDES, 1978). Em seguida, foram dosados: N-NO_3^- (CATALDO, et al., 1975), N-NH_4^+ (FELKER, 1977), açúcar solúvel (YEMM & WILLIS, 1954) e Namino livre (YEMM & COCKING, 1955).

Os resultados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade e homogeneidade da variância, obtendo-se o erro padrão da média para cada variável analisada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação de N não afetou significativamente a massa fresca (Figura 1A) das folhas, bainhas e colmos de ambas as variedades de milho no 1º estágio de desenvolvimento vegetativo das plantas. No 2º

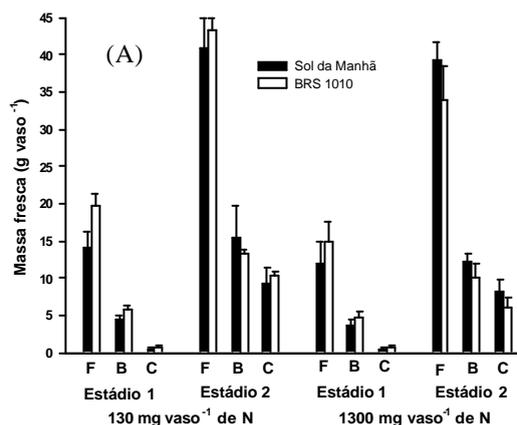


Figura 1A. Massa fresca (A) no primeiro e segundo estágio de desenvolvimento em folhas, bainhas e colmos (F, B e C respectivamente) de variedades de milho cultivadas em 130 e 1300 mg vaso⁻¹ de N. Barras na vertical indicam o erro padrão da média.

estádio, que é caracterizado pelo crescimento do

colmo em diâmetro e comprimento (FANCELLI, 2001), o desenvolvimento das folhas e bainhas nos dois tratamentos foi de aproximadamente o dobro em relação ao observado no 1º estágio, enquanto que os colmos de ambos os genótipos e em ambas as doses de N proporcionaram um aumento em torno de 9 a 20 vezes (Figura 1A).

O suprimento mais prolongado de nitrogênio na forma de nitrato, nas duas doses aplicadas, ocasionou incrementos na massa da parte aérea das plantas analisadas no 2º estágio de desenvolvimento vegetativo. Embora a parte aérea das duas variedades tenha apresentado um aumento considerável de massa fresca no 2º estágio, na maior dose de $N-NO_3^-$, a variedade Sol da Manhã apresentou um maior aumento nos três segmentos, possivelmente, devido a uma maior remobilização do nitrato estocado nos vacúolos da parte aérea durante o 1º estágio para síntese de biomoléculas necessárias para o

do nitrogênio implicam em grande demanda metabólica de energia (RODRIGUES, 2001), e o suprimento de energia implica na degradação de biomoléculas reduzindo assim a massa seca das plantas, portanto, estes resultados podem indicar maior atividade de absorção e de assimilação de N por plantas da variedade Sol da Manhã, nas duas doses de nitrato. Dessa forma, a Sol da Manhã pode apresentar maior capacidade para acumular $N-NO_3^-$ nos vacúolos e disponibilizá-lo mais tardiamente para a biossíntese de biomoléculas.

A variedade Sol da Manhã demonstrou no 2º estágio e nos três segmentos da parte aérea, um maior acúmulo de massa fresca e seca (Figura 1A e Figura 1B), do que o observado em BRS 1010. A evolução dos valores de massa seca apresentados no 2º estágio expressam a predominância de acúmulo de massa nas folhas em relação à bainha e aos colmos na parte aérea

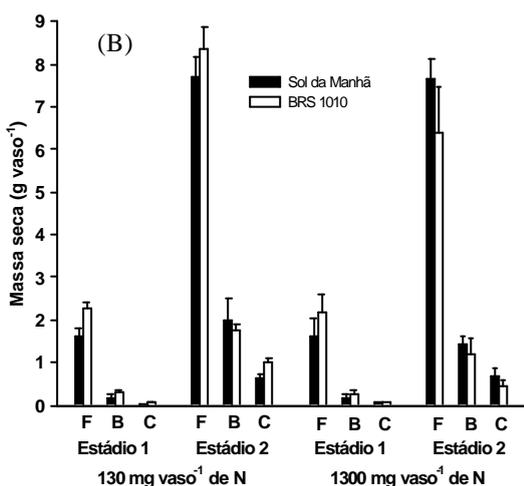


Figura 1B. Massa seca (g vaso⁻¹) (B) no primeiro e segundo estágio de desenvolvimento em folhas, bainhas e colmos (F, B e C respectivamente) de variedades de milho cultivadas em 130 e 1300 mg vaso⁻¹ de N. Barras na vertical indicam o erro padrão da média.

desenvolvimento da planta (Figura 1A). Rodrigues (2001) observou um aumento na massa fresca de plantas de arroz cultivadas em terra e sob um suprimento excessivo e prolongado de nitrogênio (até 40 DAG).

No 1º estágio, o valor médio de massa seca das folhas de Sol da Manhã foi menor do que o BRS 1010 (Figura 1B). A absorção de N mediada por transportadores de alta afinidade assim como todos os processos que se destinam à assimilação

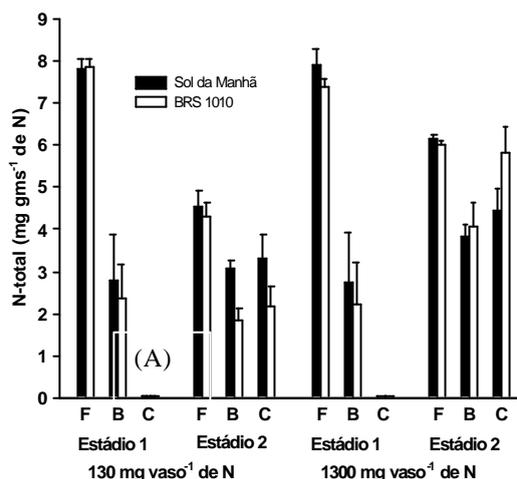


Figura 2A. N-total (mg gms⁻¹ de N) no primeiro e segundo estágio de desenvolvimento em folhas, bainhas e colmos (F, B e C respectivamente) de variedades de milho cultivadas em 130 e 1300 mg vaso⁻¹ de N. Barras na vertical indicam o erro padrão da média.

das plantas de milho e sugerem maior desenvolvimento relativo das plantas da variedade Sol da Manhã nesta etapa metabólica, em relação às plantas do híbrido BRS 1010. No 1º estágio o teor de N-total não variou entre variedades e entre tratamentos, entretanto, a partição de N nas frações da parte aérea foi bastante expressiva com um maior conteúdo nas folhas e menor nos colmos (Figura 2A).

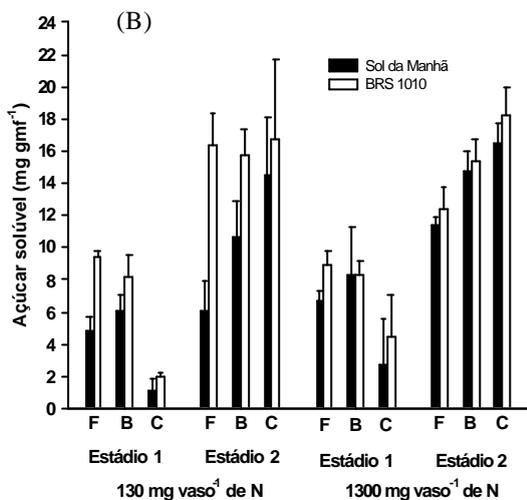


Figura 2B. Açúcar solúvel (mg gm⁻¹) no primeiro e segundo estágio de desenvolvimento em folhas, bainhas e colmos (F, B e C respectivamente) de variedades de milho cultivadas em 130 e 1300 mg vaso⁻¹ de N. Barras na vertical indicam o erro padrão da média.

Sabino (2003) observou um aumento na percentagem de nitrogênio presente nos tecidos da parte aérea de plantas de arroz com o aumento da dose de adubo nitrogenado, no período do desenvolvimento vegetativo.

O teor de N-total (Figura 2A) aumentou consideravelmente no colmo no 2º estágio, sobretudo com a dose de 1300 mg N-NO₃⁻. Esses dados relacionados com os de Namino (Figura 3B), podem indicar aumento significativo de N reduzido e uma maior habilidade do Sol da Manhã na aquisição de NO₃⁻ em condições de baixa disponibilidade de nitrogênio. Sabino

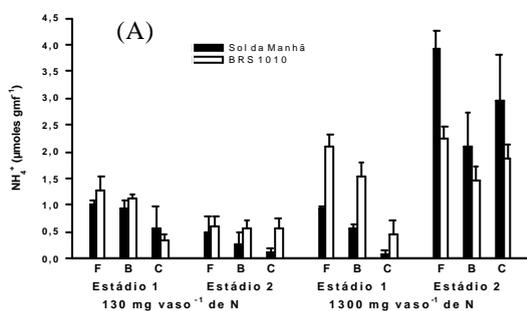


Figura 3A. NH₄⁺ (A) no primeiro e segundo estágio de desenvolvimento em folhas, bainhas e colmos (F, B e C respectivamente) de variedades de milho cultivadas em 130 e 1300 mg vaso⁻¹ de N. Barras na vertical indicam o erro padrão da média.

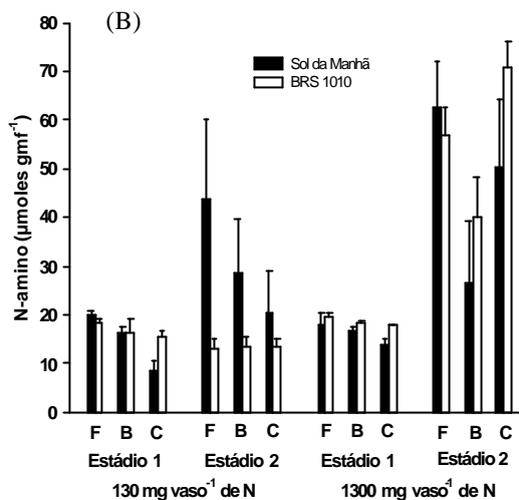


Figura 3B. N-amino (μmoles gm⁻¹) (B) no primeiro e segundo estágio de desenvolvimento em folhas, bainhas e colmos (F, B e C respectivamente) de variedades de milho cultivadas em 130 e 1300 mg vaso⁻¹ de N. Barras na vertical indicam o erro padrão da média.

(2003) estudando o metabolismo de nitrogênio em plantas de arroz em associação com bactérias diazotróficas endofíticas observou comportamento semelhante a este.

O 2º estágio é caracterizado pelo crescimento do colmo em diâmetro e comprimento, conseqüentemente, as plantas deverão estar em intensa atividade de biossíntese das biomoléculas necessárias a esse desenvolvimento. O alto teor de NH₄⁺ (Figura 3A) nos três segmentos da parte aérea das plantas neste estágio e sob a maior dose de N indica uma alta atividade metabólica de redução do nitrato absorvido, que é proporcional ao aumento na concentração de Ntotal sob a maior dose de N (Figura 2A). A variedade Sol da Manhã apresentou maior concentração de NH₄⁺ na maior dose de NO₃⁻, nos três segmentos e, assim, possivelmente, uma atividade mais elevada de redução do nitrogênio, sob a maior dose de nitrato do que a variedade BRS 1010. O menor conteúdo de N-amino observado no colmo em Sol da Manhã (Figura 3B) é relativo ao NO₃⁻ acumulado (Figura 4A). Entretanto, parte do NO₃⁻ eventualmente reduzido nas bainhas pode ter sido translocado para as raízes.

A redução na concentração de Ntotal nas folhas e aumento nos colmos das plantas no 2º estágio foram proporcionais ao aumento da massa fresca e da massa seca da parte aérea, principalmente nestes segmentos (Figura 1A, Figura 1B e Figura 2A), sendo provavelmente

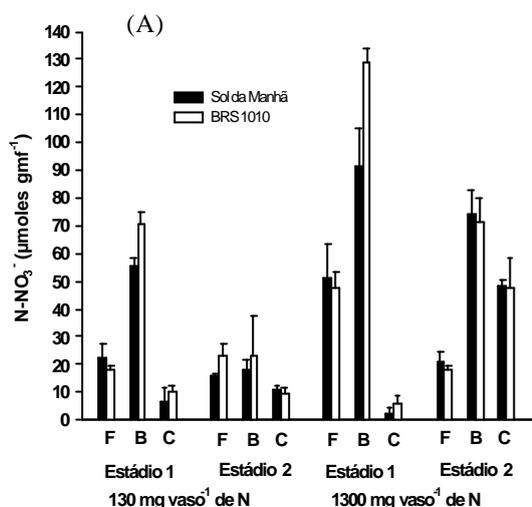


Figura 4A. NO₃⁻ (A) no primeiro e segundo estágio de desenvolvimento em folhas, bainhas e colmos (F, B e C respectivamente) de variedades de milho cultivadas em 130 e 1300 mg vaso⁻¹ de N. Barras na vertical indicam o erro padrão da média.

para as folhas um indicativo do grau de desenvolvimento da planta neste período e, para os colmos, um aumento do acúmulo de reservas de biomoléculas.

No 1º estágio, os teores de NO₃⁻ (Figura 4A) foram bastante elevados nas folhas e principalmente nas bainhas de ambas as variedades. Rodrigues (2001) também encontrou elevados teores de NO₃⁻ em plantas de arroz, até 144,81 µmol gm⁻¹. As bainhas das duas variedades apresentaram no 1º estágio, um conteúdo maior de N-NO₃⁻ do que as folhas e colmos (Figura 4A). Nessa fração da parte aérea a variedade BRS 1010 acumulou mais N-NO₃⁻ do que a Sol da Manhã. O acúmulo de NO₃⁻ nas bainhas sinaliza uma condição de estresse fisiológico caracterizado pelo esgotamento de esqueletos carbônicos, poder redutor e ATP necessários para a redução do NO₃⁻.

A variedade BRS 1010 apresentou maior teor de N-NO₃⁻ nas bainhas em ambos os tratamentos no 1º estágio, o que pode indicar uma menor atividade metabólica de redução do nitrato absorvido desta variedade, em comparação com a Sol da Manhã. No início do desenvolvimento vegetativo os elevados teores de aminoácidos livres nos tecidos vegetais podem indicar uma intensa assimilação de N-NO₃⁻. As duas variedades apresentaram o mesmo perfil metabólico nas folhas e nas bainhas, em ambos os tratamentos (Figura 4A e Figura 3B). O

acúmulo de N-NO₃⁻ nas folhas e bainhas de ambas as variedades aumentou com a dose de N (Figura 4A). Rodrigues (2001) observou um aumento nos teores de NNO₃⁻ em plantas de arroz, proporcional ao teor do N aplicado, verificando também uma partição diferenciada de N-NO₃⁻ nas diversas frações da parte aérea (bainha e limbo foliar) como indicativo do estado fisiológico da planta, considerando o N-NO₃⁻ como reserva de N na fase vegetativa para o enchimento de grãos na fase reprodutiva.

No 2º estágio ambas as variedades apresentaram aumento no teor de NO₃⁻ nas bainhas e nos colmos, com a dose de 1300 mg vaso⁻¹ de N (Figura 4A), sendo que nas folhas não houve variação do conteúdo de nitrato com esse aumento da dose de nitrogênio.

O aumento no acúmulo de NO₃⁻ no colmo no 2º estágio na dose de 1300 mg vaso⁻¹ de N (Figura 4A) confirma o papel, em plantas de milho, deste segmento da parte aérea como reserva de sólidos para posterior formação de grãos. Provavelmente a menor dose de nitrogênio aplicada às plantas foi apenas suficiente para prover as exigências metabólicas em suprimento de nitrogênio para o desenvolvimento basal das plantas. Entretanto, sob dose maior foi possível à reserva de nitrato nos vacúolos dos colmos e nessa dose ambos os genótipos mostraram igual performance. Rodrigues (2001) observou um maior teor de NO₃⁻ nas bainhas do que no limbo foliar de plantas de arroz com 40 DAG e sob diferentes doses de N-NO₃⁻.

O teor de N-amino (Figura 3B) foi menor nos três segmentos da parte aérea das plantas da variedade BRS 1010 sob o tratamento de 130 mg vaso⁻¹ de N e o de açúcar solúvel (Figura 2B) foi superior, indicando para esta variedade e dose, uma menor atividade de redução de N na parte aérea em relação à variedade Sol da Manhã. Esta apresentou um aumento considerável do teor de N-amino em ambas as doses de N, enquanto que, na BRS 1010, o teor de N-amino aumentou apenas na dose de 1300 mg N (Figura 3B).

O teor de N-amino (Figura 3B) aumentou consideravelmente no 2º estágio com os dois tratamentos e nos três segmentos. O nível normal de N-amino em plantas de milho, em pleno funcionamento está entre 15 e 20 µmoles gm⁻¹. Na menor dose de nitrato (130 mg vaso⁻¹), apenas a Sol da Manhã mostrou aumento nos níveis de N-amino. Este acúmulo pode ser uma resposta à maior eficiência dos sistemas HATS - sistemas de transporte de alta afinidade- nas plantas, com esse acúmulo de N-amino, provavelmente

exercendo um controle por *feedback* sobre os processos de aquisição de N (WIRÉN *et al.*, 2000). O fato de fenômeno semelhante não ser observado na variedade BRS 1010 fortalece a hipótese de que, ao contrário do que acontece com a Sol da Manhã, na BRS 1010 os mecanismos HATS são aparentemente de menor eficiência. Segundo Howitt *et al.* (1999), condições de restrição de N levam a um aumento da atividade de HATS, enquanto que, altas concentrações de amônio ou de produtos de sua assimilação como a glutamina levam a repressão da atividade de HATS que também pode ser regulada geneticamente.

Em altas doses de N ($1300 \text{ mg vaso}^{-1}$), os elevados acúmulos de N-amino (de 30 a $70 \text{ } \mu\text{moles gm}^{-1}$) parecem indicar distúrbios de metabolismo (Figura 3B), provavelmente relacionados à indução de transportadores do grupo LATS - sistemas de transporte de baixa afinidade - (WIRÉN *et al.*, 2000). Este sistema é responsável pela extração de nutrientes a altas concentrações externas e exibe um aumento linear de atividade em resposta à concentração de amônio (RAWAT *et al.*, 1999 & KRONZUCKER *et al.*, 1996), estando correlacionado com a alta capacidade de transporte, que é um parâmetro crucial para a manutenção de um grande influxo em alta disponibilidade externa do nutriente (WIRÉN *et al.*, 2000).

No 1º estágio (Figura 2B), o conteúdo de açúcar solúvel nas folhas e nas bainhas não foi afetado pelos tratamentos, mas os colmos, sob maior dose de N apresentaram aumento de aproximadamente 4 vezes. A variedade BRS 1010 apresentou teores mais elevados de açúcar solúvel (Figura 2B) do que a Sol da Manhã. Paralelamente, o aumento da massa fresca nessa variedade (Figura 1A), em relação a Sol da Manhã, parece indicar uma maior atividade metabólica, culminando com um melhor desenvolvimento dessas plantas no 1º estágio de desenvolvimento vegetativo. Magalhães *et al.* (1993) observaram uma redução no acúmulo de açúcar solúvel das folhas de milho adubadas com NH_4^+ comparadas com aquelas adubadas com NO_3^- , devido ao alto requerimento de esqueletos carbônicos necessários para incorporar o NH_4^+ . Souza *et al.* (1999) observaram que a redução no teor de açúcar estava associada a um aumento na concentração de aminoácidos livres na folha bandeira, o que poderia indicar uma intensa atividade metabólica com maior consumo de energia para assimilação do nitrogênio.

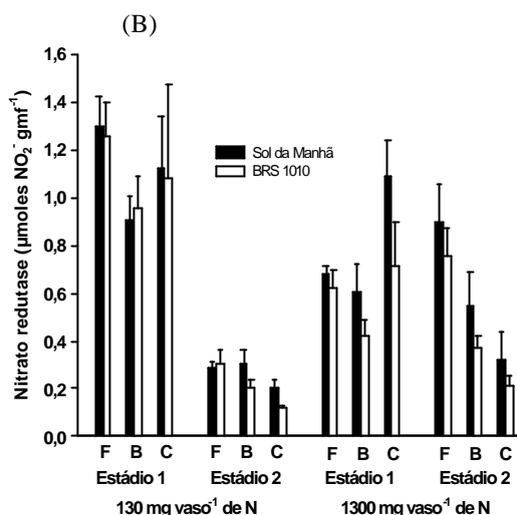


Figura 4B. Nitrato Redutase ($\mu\text{moles gm}^{-1}$) (B) no primeiro e segundo estágio de desenvolvimento em folhas, bainhas e colmos (F, B e C respectivamente) de variedades de milho cultivadas em 130 e $1300 \text{ mg vaso}^{-1}$ de N. Barras na vertical indicam o erro padrão da média.

O menor conteúdo de açúcar no primeiro estágio, em relação ao do segundo estágio (Figura 2B) é coerente com a maior atividade da NR (Figura 4B) nessa etapa metabólica que com a intensa expansão radicular demanda uma grande quantidade de energia, a qual provavelmente é advinda principalmente da oxidação de açúcares. No 2º estágio, as folhas das plantas da variedade BRS 1010, que receberam 130 mg vaso^{-1} de N, apresentaram o dobro do teor de açúcar solúvel em comparação com as da variedade Sol da Manhã, o que pode indicar uma menor atividade metabólica de redução de N, uma vez que nessa circunstância os altos teores de açúcar são indicadores de energia prontamente disponível (SOUZA, 1995) que será utilizada em tais atividades.

O aumento do teor de açúcar no colmo, no 2º estágio, demonstra também a função de estocar açúcares (fotoassimilados) nessa etapa metabólica, quando ocorre a aceleração do processo de alongação das células em desenvolvimento dos internódios e da formação de inflorescência masculina. O menor teor de açúcar solúvel observado na Sol da Manhã, em relação ao verificado na BRS 1010, principalmente sob a menor dose de N (Figura 2B), reflete a maior atividade desta variedade na assimilação do nitrogênio, como o observado pela concentração de N-amino. Souza *et al.* (1999) observaram que plantas de arroz que

receberam duas aplicações de nitrogênio (60 e 90 Kg N ha⁻¹) depois da antese tiveram um acúmulo de açúcar solúvel menor ou igual ao controle não adubado e que a redução no teor de açúcar estava associada a um aumento na concentração de aminoácidos livres na folha bandeira, o que poderia indicar uma intensa atividade metabólica com maior consumo de energia para a assimilação do nitrogênio.

A diminuição da atividade da enzima Nitrato Redutase (NR) no 1º estágio (Figura 4B), nas folhas de ambas as variedades e nas bainhas de BRS 1010 sob maior dose de nitrato possivelmente está relacionada com o aumento na proporção da redução do NO₃⁻ na parte aérea e, portanto, na redução da demanda de esqueletos carbônicos para respiração. No 1º estágio, os baixos níveis de açúcar solúvel (Figura 2B) e N-amino (Figura 3B) detectados nos colmos, nos dois genótipos e em ambos os tratamentos, se comparados a alta atividade da NR (Figura 4B) podem indicar uma exportação destes metabólitos sintetizados nos colmos para as raízes que, segundo Fancelli (2001), neste estágio de desenvolvimento se encontra em intensa expansão.

A atividade da enzima NR (Figura 4B) foi drasticamente reduzida nos dois genótipos, no 2º estágio, na dose de 130 mg pote⁻¹ de N na folha e bainha, e em ambas no colmo e na variedade Sol da Manhã somente na bainha. A redução da atividade da enzima NR no 2º estágio está associada ao aumento do teor de açúcar solúvel (Figura 2B), indicando uma diminuição da atividade de redução do N-NO₃⁻ na parte aérea e nesta etapa de crescimento das plantas. Simultaneamente, o acúmulo de grande quantidade de aminoácidos livres (Figura 3B), principalmente em plantas sob maior dose de N, pode indicar nessa etapa metabólica a interrupção da síntese de proteínas como sugere Fernandes (1995) em plantas jovens de arroz submetidas ao estresse por luminosidade e temperatura.

Apesar da redução da atividade da NR ter ocorrido com a mesma intensidade no 2º estágio de desenvolvimento em ambas as variedades, a Sol da Manhã apresentou um menor teor de açúcar (Figura 2B) e conseqüentemente um maior teor de N-amino (Figura 3B), principalmente sob a menor dose de N (130 mg vaso⁻¹ de N), o que poderia indicar para esta variedade uma maior atividade metabólica com maior consumo de energia para a assimilação de nitrogênio, do que para o híbrido BRS 1010. Comportamento similar foi observado por Bloom

et al. (1992) em cevada, quando sob uma alta proporção de redução de nitrato nas raízes, mais de 25% da energia da respiração radicular é mobilizada para a absorção, redução e assimilação do nitrogênio.

CONCLUSÕES

A variedade Sol da Manhã apresentou nas folhas, no 1º estágio de desenvolvimento vegetativo, um maior acúmulo de N-NO₃⁻ do que a BRS 1010, assim como um maior acúmulo de N-amino nas folhas e bainhas no 2º estágio e sob a menor dose de nitrogênio.

Esta variedade também demonstrou maior capacidade em absorver e reduzir o NO₃⁻ do que o híbrido simples BRS 1010, indicando maior adaptação desta à condição de restrição de N do que a do híbrido simples.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLOOM, A. J.; SUKRAPANNA, S. E. & WARNER, R. H. Root respiration associated with ammonium and nitrate absorption and assimilation in barley. **Plant Physiology**, v. 99, n. 4, p.1294-1301, 1992.
- CATALDO, D. A.; HAROON, M.; SCHRADER, L. E. & YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 6, n. 1, p. 71-80, 1975.
- FANCELLI, A. L. **Fenologia do milho**. Disponível em: <<http://www.scielo.br/cgi-bin/ibpe/fbtext?...=isoeseq=1415-4757-004esss=1eaut=71981947>>, Acesso em: 01 mar. 2001.
- FERNANDES, M. S. **Absorção e metabolismo de nitrogênio em plantas**. Rio de Janeiro: UFRRJ, 1978. 50p.
- FERNANDES, M. S. Light and temperature influences on the free amino acid pool composition of rice plants. **Turrialba**, v.33, n.3, p. 297- 301, 1983.
- FERNANDES, M. S. & ROSSIELLO, R. O. P. Mineral nitrogen in plant physiology and plant nutrition. **Critical Rev. Plant Sci.**, v.14, n. 2, p. 111- 148, 1995.

- 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**, v.125, p. 1258- 1270, 2001.
- JAWORSKI, E. G. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 43, p.12-1279, 1971.
- KRONZUCKER, H. J; SIDDIQI, M. Y. & GLASS, A. D. M. Kinetics of NH_4^+ influx in spruce. **Plant Physiol**, v.110, p. 773-779, 1996.
- MACHADO, A. T. **Perspectiva do melhoramento genético em milho (*Zea mays L.*) visando eficiência na utilização do nitrogênio**. 1997. 216f. Tese (Doutorado em Ciência - Genética) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1997.
- MAGALHÃES, J. R. & FERNANDES, M.S. Absorção e metabolismo do nitrogênio sob condições de stress. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE NITROGÊNIO EM PLANTAS, 1, 1990, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro, UFRRJ, 249- 226, 1993.
- MALAVOLTA, E. **Nutrição mineral e adubação do milho**. 2.ed. Divulgação técnica Ultrafertil, 1981. 4p.
- NASS, L. L. & PATERNIANI, E. Pre- breeding: a link between genetic resources and maize breeding. **Sci. Agri**. v.57, p. 581- 587, 2000.
- RAWAT, S. R.; SILIM, S. N.; KRONZUCKER, H. J.; SIDDIQI, M. Y.; & GLASS, A. D. M. AtAMT1 gene expression and NH_4^+ uptake in roots of *Arabidopsis thaliana*: evidence for regulation by root glutamine levels. **The Plant Journal**, v.19, p. 143-152, 1999.
- RODRIGUES, F. S. **Metabolismo de nitrogênio em arroz cultivado sob fluxo sazonal de nitrato**. 2001. 139f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Ciência do Solo) - Instituto de Agronomia. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2001.
- SABINO, D. C. C. **Metabolismo de nitrogênio em plantas de arroz (*Oryza sativa L.*) em associação com bactérias diazotróficas endofíticas**. 2003. 64f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Instituto de Agronomia. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2003.
- SOUZA, S. R. **Efeito da Aplicação Foliar de Nitrogênio Pós-Antese Sobre as Enzimas de Assimilação de N e Acúmulo de Proteína em Grãos de Arroz**. 1995. 178f. Tese de Doutorado. (Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo) - Instituto de Agronomia. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1995.
- SOUZA, S. R.; STARK, E.M.L.M.; FERNANDES, M.S. & MAGALHÃES, J.R. Effects of supplemental nitrogen on nitrogen- assimilation enzymes, free amino nitrogen, soluble sugars and crude protein of rice. **Commun. Soil. Sci. Plant Anal.**, v.30, n. 5&6, p. 711- 724, 1999.
- TEDESCO, M. J. Extração simultânea de N, P, K, Ca e Mg em tecidos de plantas por digestão com H_2O_2 - H_2SO_4 . UFRGS. **Informativo Interno 01/82**. Depto. de Solos, UFRGS. Porto Alegre. 23p. 1982
- WIRÉN, N; GAZZARRINI, S; GOJON, A & FROMMER, W.B. The molecular physiology of ammonium uptake and retrieval. **Current Opinion in Plant Biology**, v.3, p. 254-261, 2000.
- YEMM, E. W. & COCKING, E. C. The determination of amino acids with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, p.209-213, 1955.
- YEMM, E. W. & WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **The Biochemical Journal**, v. 90, n. 3, p. 508-514, 1954.