

Respostas fisiológicas e enzimáticas no milho sob diferentes concentrações de nitrogênio

Physiological and enzymatic responses in maize under different nitrogen concentrations

Edson Dias de Oliveira Neto^{1*} (ORCID 0000-0002-1855-762X), Helen Cristina de Arruda Rodrigues² (ORCID 0000-0002-2963-4678), Jairo Osvaldo Cazetta³ (ORCID 0000-0001-9541-6655), Henrique Antunes de Souza⁴ (ORCID 0000-0002-2209-4285)

¹Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil. *Autor para correspondência: edson_net@live.com

²Universidade Estadual do Piauí, Teresina, PI, Brasil.

³Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brasil.

⁴Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI, Brasil.

Submissão: 22/12/2022 | Aceite: 31/01/2023

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 fitomassa e grãos pela cultura de milho. Assim, objetivou-se estudar a diferença na eficiência de uso do nitrogênio nas raízes e parte aérea em dois genótipos de milho, na fase inicial de crescimento das plantas e avaliar as respostas bioquímico-fisiológicas desses órgãos quando as plantas são submetidas a distintas doses de N em condições hidropônicas. O experimento foi realizado em casa de vegetação, em solução nutritiva por 20 dias, com dois genótipos (AS1522 e AS1596) submetidos a quatro concentrações de N (zero; 112; 224 e 448 mg dm⁻³). O delineamento utilizado foi em inteiramente casualizado com três repetições. Houve diferença entre os genótipos estudados para as variáveis biométricas, massa de matéria seca, acúmulo de N e aminoácidos livres totais na parte aérea das plantas. Na raiz, a atividade da redutase do nitrato foi a variável que diferenciou a eficiência no uso do nitrogênio entre os genótipos. O genótipo AS1596 é mais eficiente no uso do nitrogênio.

PALAVRAS-CHAVE: *Zea mays*; solução nutritiva; estado nutricional; atividade enzimática.

ABSTRACT

The study of chemical and biochemical aspects associated with the development of different plant parts enables the assessment of a series of reactions leading to the production of biomass and grain culture. Thus, the objective of was to study the difference in nitrogen efficiency in roots and shoots of two corn genotypes in the initial stages of plants growth, and evaluate the biochemical and physiological responses of these organs, when plants are subjected to different doses of N, under hydroponic conditions. The experiment was conducted in a greenhouse in nutrient solution for 20 days, with two genotypes (AS1522 and AS1596) subjected to four N concentrations (zero, 112, 224 and 448 mg dm⁻³). Completely randomized desing with three replications das apply. The major differences among genotypes for biometric variables, dry matter, N accumulation and free amino acids were observed in the shoots. At root, the activity of nitrate reductase activity was the variable that stood out and provided the largest differences between genotypes. The genotype AS1596 is more efficient in N utilization.

KEYWORDS: *Zea mays*; nutritive solution; nutritional state; enzyme activity.

INTRODUÇÃO

A eficiência nutricional indica a capacidade da planta em extrair nutrientes do meio de cultivo e convertê-los em fotoassimilados com consequente desenvolvimento da planta. Os mecanismos que governam a eficiência de absorção, que resumidamente, 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 (BHATLA & LAL 2018). Para o milho, a deficiência de N promove menor eficiência nutricional (ZEFFA et al. 2019), ainda este é o nutriente mais acumulado na parte aérea do milho (BREDA et al. 2019).

Dentre os nutrientes necessários ao crescimento e desenvolvimento das plantas, destaca-se o N por

ser constituinte de proteínas, ácidos nucleicos, fitocromos e clorofila. O N tem atuação importante nas taxas de iniciação e expansão foliar, no tamanho final e na intensidade de senescência das folhas, sendo também o macronutriente mais complexo em manejo e recomendação de adubação (LAMBERS & OLIVEIRA 2019, TAIZ et al. 2017).

Embora se saiba que plantas submetidas a doses nitrogênio tendem a apresentar maior crescimento, refletivos na sua produtividade, os eventos químicos e bioquímicos relacionados ao metabolismo e desempenho de genótipos distintos ainda não estão muito bem esclarecidos (KALISZ et al. 2019). Desse modo, a compreensão de tais fenômenos e mecanismos é de extrema importância para os fisiologistas e melhoristas envolvidos com pesquisa na cultura do milho.

A avaliação da capacidade de absorção e da remobilização do N no desenvolvimento da planta também fornece informações importantes para a avaliação da eficiência agrônômica desse nutriente (ULLAH et al. 2019, MĂLINAȘ et al. 2022, TOCA et al. 2022).

O cultivo de plantas em vasos, utilizando solução nutritiva, é uma ferramenta muito útil para estudar detalhes da nutrição mineral e a resposta de distintos genótipos, 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 (FAGERIA 1998, GONDIM et al. 2010).

É consenso que existem diferenças entre genótipos em relação à eficiência no 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 utilização do N (CARVALHO et al. 2012). Assim, objetivou-se estudar na fase inicial de crescimento, a diferença na eficiência de uso do nitrogênio pelas raízes e parte aérea de dois genótipos de milho e avaliar as respostas bioquímico-fisiológicas desses órgãos, com as plantas sendo submetidas a crescentes quantidades de N.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em condições de casa de vegetação, onde as sementes de milho foram germinadas em areia e as plântulas transferidas para a hidroponia aos quinze dias após emergência, cultivando-se duas plantas por vaso. Cada unidade experimental (ou parcela) foi composta por um vaso de polietileno com capacidade de 6 dm³, encapado com papel alumínio para evitar a entrada de luz, deixando-se o recipiente com 5,8 dm³ de solução. Estas foram mantidas em solução nutritiva completa (Solução Hoagland modificada para cultivo de plantas, segundo EPSTEIN & BLOOM (2006), porém diluída (1/2 da concentração usual) durante os primeiros sete dias e, após esse período, sem diluição. Foi observado início de sintoma de deficiência de Fe, utilizando-se para correção do problema a adição de 15 ml L⁻¹ da solução de Fe-EDTA (80 mmol L⁻¹) nos primeiros sete dias e de 30 ml L⁻¹ desta solução, no restante do tempo do experimento. As plantas foram mantidas na solução completa por 15 dias, após o transplante e posterior à isso foram impostos os tratamentos.

A solução nutritiva foi mantida sob aeração forçada e renovada a cada cinco dias, sendo recomposto diariamente o volume evapotranspirado com água desionizada. As soluções foram preparadas com substâncias puras (p.a.) e água desionizada, sendo o valor do pH monitorado diariamente e ajustado a 5,1 ± 0,1, utilizando-se solução de NaOH ou HCl 0,1 mol L⁻¹.

As plantas foram submetidas a oito tratamentos, compostos pela combinação dos dois genótipos com quatro concentrações de N na solução nutritiva, em delineamento inteiramente casualizado. Os genótipos utilizados foram os híbridos simples AS1522 e AS1596, obtidos junto à Agroeste Sementes da Monsanto do Brasil®, os quais foram escolhidos por serem híbridos simples, além de apresentarem alguns resultados contrastantes quanto à produção, em ensaios de avaliação de cultivares (SCHIMITZ et al. 2010), sendo o AS1522 preconizado como de menor potencial produtivo e, o AS1596 como de maior potencial produtivo.

As concentrações de N utilizadas foram: zero (controle), 112, 224 e 448 mg dm⁻³, usando o nitrato de amônio como fonte de N. Salienta-se que a dose de 224 mg dm⁻³ é a originalmente proposta por EPSTEIN & BLOOM (2006). O experimento foi mantido nestas condições por 20 dias, quando as plantas dos tratamentos com a dose 0 e 112 mg dm⁻³ começaram a apresentar sintomas de deficiência de N. Nesse momento, as plantas foram colhidas e avaliadas 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 nitrato redutase, além das avaliações para parte aérea e raízes constando de: massa de matéria seca, teor de N total, teor de aminoácidos livres totais, acúmulo de N, teor de proteína bruta, eficiência de absorção e eficiência de utilização de N.

Para a avaliação da altura das plantas e comprimento de raiz, foi utilizada uma régua graduada, para diâmetro um paquímetro, e para obtenção de massa de matéria seca, tanto da raiz quanto da parte aérea, estas foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 60 °C até peso constante. Posteriormente, as plantas foram moídas para realização das análises químicas. A atividade da redutase do nitrato foi determinada pelo método *in vivo* (JAWORSKI 1971). O teor de N total foi determinado segundo método de BATAGLIA et al. (1983) e teor de aminoácidos livres totais pelo método de MOORE (1968). Para obtenção do acúmulo de N, foi multiplicado o teor de N total pela massa de matéria seca. O teor de proteína bruta foi obtido pela multiplicação do teor de N total pelo fator 6,25. A eficiência de absorção e a eficiência de utilização foram calculadas de acordo com FAGERIA (1998).

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e, quando significativo foi realizado teste de comparação de médias (Tukey a 5%) para o fator qualitativo (genótipos) e regressão polinomial para o fator quantitativo (doses de N). Também se realizou correlação de Pearson entre as variáveis bioquímicas, estado nutricional e produção. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software SISVAR (FERREIRA 2019).

RESULTADOS

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

Tabela 1. Resultados da análise de variância e média dos resultados da altura (Alt); diâmetro (Dia); comprimento de raiz (CR); massa de matéria seca de raiz (MSR) e parte aérea (MSPA); teor de nitrogênio total da raiz (NTR) e da parte aérea (NTPA); teor de proteína bruta da raiz (PBR) e parte aérea (PBPA); acúmulo de nitrogênio na raiz (ANR) e da parte aérea (ANPA); atividade da redutase do nitrato na raiz (NRR) e na parte aérea (NRPA); teor de aminoácidos livres totais de raiz (ALR) e de parte aérea (ALPA); eficiência de absorção (EA) e eficiência de utilização (EU), em função dos genótipos e doses de nitrogênio, em plantas de milho em condições hidropônicas.

Table 1. Results of analysis of variance and mean of height results (Alt); diameter (Dia); root length (CR); root dry matter mass (MSR) and aerial part (MSPA); total nitrogen content of the root (NTR) and shoot (NTPA); crude protein content of the root (PBR) and aerial part (PBPA); accumulation of nitrogen in the root (ANR) and shoot (ANPA); nitrate reductase activity in root (NRR) and shoot (NRPA); total free amino acid content of root (ALR) and shoot (ALPA); uptake efficiency (EA) and utilization efficiency (EU), as a function of genotypes and nitrogen doses, in maize plants under hydroponic conditions.

Causas de variação	Alt (cm)	Dia (cm)	CR (cm)	MSR (g)	MSPA (g)	NTR (g kg ⁻¹)	NTPA (g kg ⁻¹)	PBR (g kg ⁻¹)	PBPA (g kg ⁻¹)
AS1596	56,83	1,69	24,03	2,54	16,01	37,27	36,78	232,91	229,87
AS1522	25,14	0,69	15,73	0,88	7,75	34,64	40,60	216,51	253,77
----- Teste de F -----									
Genótipos (G)	175,98**	339,30**	42,97**	106,96**	216,04**	9,24**	38,55**	9,22**	38,56**
Doses (D)	18,65**	9,55**	16,40**	9,50**	24,54**	126,36**	234,41**	126,27**	234,48**
G x D	9,97**	3,14 ^{NS}	4,07*	4,56*	5,02*	5,43*	23,55**	5,42*	23,56**
C.V. (%)	14,30	11,10	15,60	23,00	11,60	5,90	3,90	5,89	3,90
	ANR	ANPA	NRR	NRPA	ALR	ALPA	EA	EU	
	(g)	(g)	($\mu\text{mol de N-NO}_2 \text{ m}^{-2}$ raiz hora ⁻¹)	($\mu\text{mol de N-NO}_2 \text{ m}^{-2}$ foliar hora ⁻¹)	(mol leucina kg ⁻¹)	(mol leucina kg ⁻¹)	mg g MSR ⁻¹	g ² MST mg N ⁻¹	
AS1596	95,60	586,22	157,56	208,18	4,57	7,93	280,59	0,54	
AS1522	28,41	307,87	105,93	126,93	2,42	7,41	489,26	0,23	
----- Teste de F -----									
Genótipos (G)	101,49**	237,65**	401,52**	88,69**	287,12**	1,18 ^{NS}	52,45*	120,63*	
Doses (D)	12,10**	58,59**	968,39**	14,07**	71,94**	16,92**	33,81*	23,81*	
G x D	7,61**	11,20**	249,20**	3,00 ^{NS}	60,82**	6,69**	14,18*	5,76*	
C.V. (%)	26,40	9,90	4,80	12,60	8,90	15,10	18,30	17,90	

^{NS} = Não significativo; * Significativo a 5% ($p < 0,05$); ** Significativo a 1% ($p < 0,01$).

As concentrações de N na solução nutritiva que proporcionaram maior altura e comprimento de raiz para o genótipo AS1522 foram 278,50 e 228,50 mg de N dm^{-3} (Figura 1), proporcionando aumentos de 33 e 35%, respectivamente, quando comparados a não aplicação de N. Para altura e comprimento de raiz, as doses que proporcionaram valores máximos para o genótipo AS1596 foram 164,88 e 226,50 mg dm^{-3} de N, correspondendo a aumentos de 18 e 49%, respectivamente, em relação ao controle (Figura 1A e 1B).

A dose de N que promoveu maior diâmetro do colmo foi de 191,30 mg dm^{-3} (Figura 1C) e o aumento obtido com a dose em questão em relação ao tratamento controle (concentração zero) foi de 12%.

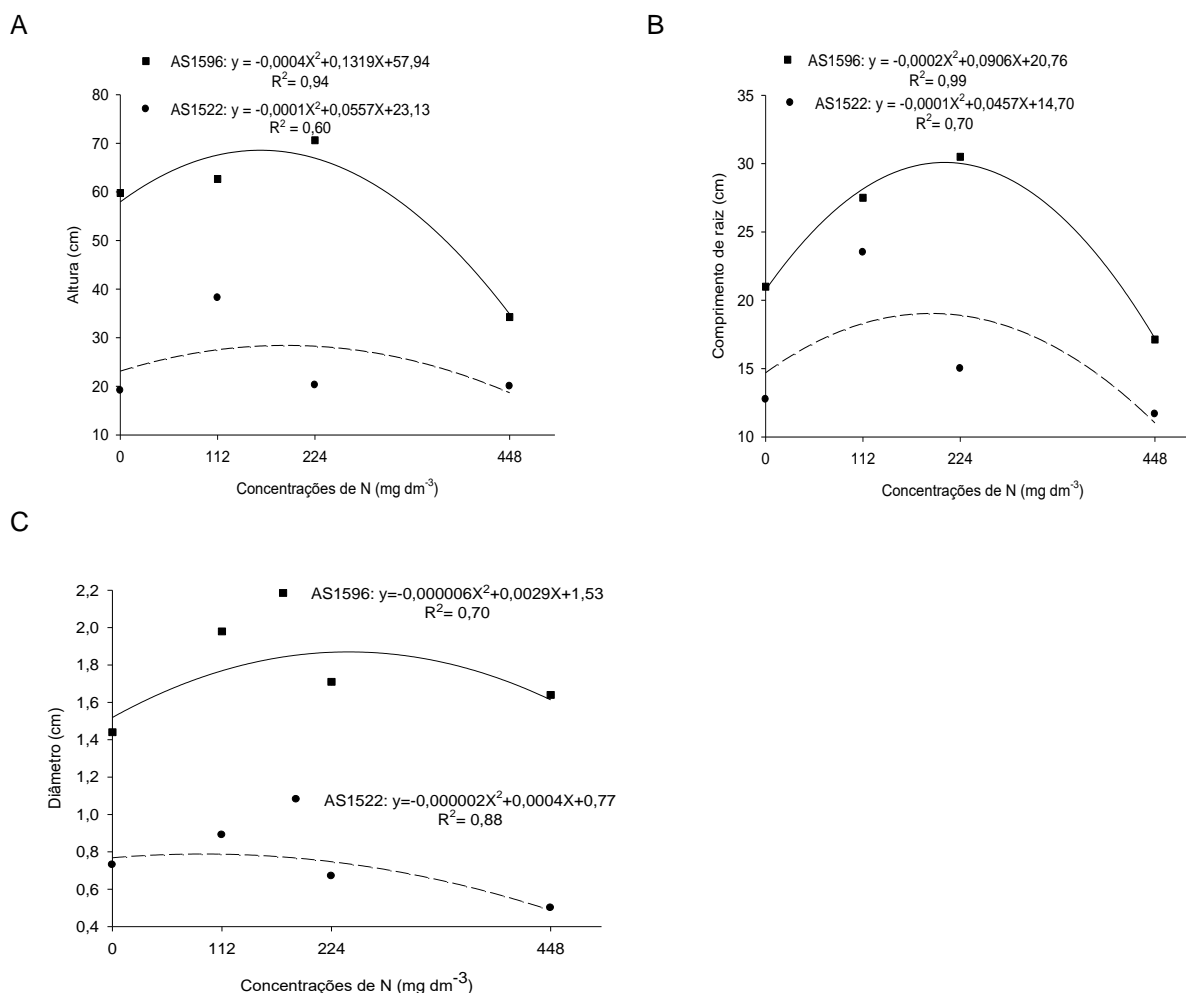


Figura 1. Altura de plantas (a), comprimento de raiz (b) e diâmetro do colmo (c) dos genótipos de milho (AS1522 e AS1596) em função das concentrações de N em solução nutritiva.

Figure 1. Plant height (a), root length (b) and stem diameter (c) of maize genotypes (AS1522 and AS1596) as a function of N concentrations in the nutrient solution.

As concentrações que proporcionaram maiores massas de matéria seca para o genótipo AS1522 foram 122,38 e 194,42 mg dm^{-3} de N, e para o genótipo AS1596 as doses foram 202,68 e 205,00 mg dm^{-3} de N, respectivamente, para raiz e parte aérea (Figura 2).

Como constatado para as variáveis biométricas, o genótipo AS1596 acumulou maior biomassa tanto na raiz quanto na parte aérea em relação ao genótipo AS1522. A superioridade obtida em relação ao controle com as doses citadas foram 35 e 49% para raiz e 11 e 45% para parte aérea, respectivamente para os genótipos AS1522 e AS1596.

O teor de N total na raiz aumentou linearmente, com as concentrações utilizadas no genótipo AS1522 (Figura 3A) e, para o genótipo AS1596 o melhor modelo foi o quadrático, com ponto de máxima obtido na dose 307,38 mg dm^{-3} de N. Com relação ao teor de N total na parte aérea para o genótipo AS1522, o melhor modelo de ajuste foi o quadrático (Figura 3B) proporcionado pelo teor de 359,50 mg dm^{-3} de N. Para o genótipo AS1596, houve aumento linear do teor de N com as doses. Os aumentos obtidos em relação ao controle com as concentrações de ponto de máxima apresentada para teor total de N foram de 93% tanto para raiz (AS1596) quanto para parte aérea (AS1522).

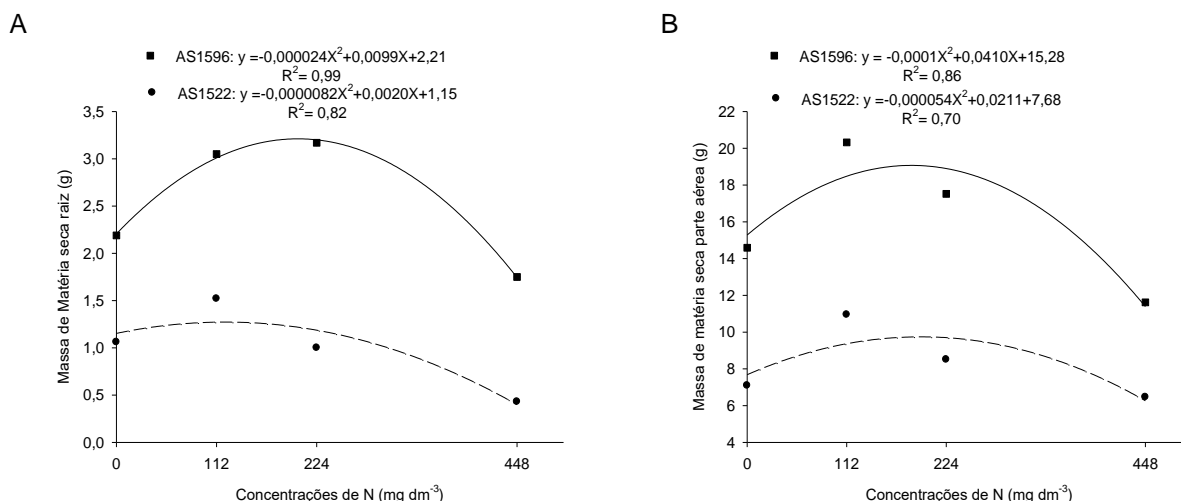


Figura 2. Massa de matéria seca de raiz (a) e parte aérea (b), de genótipos de milho em função das concentrações de N em solução nutritiva.

Figure 2. Root (a) and shoot (b) dry matter mass of maize genotypes as a function of N concentrations in nutrient solution.

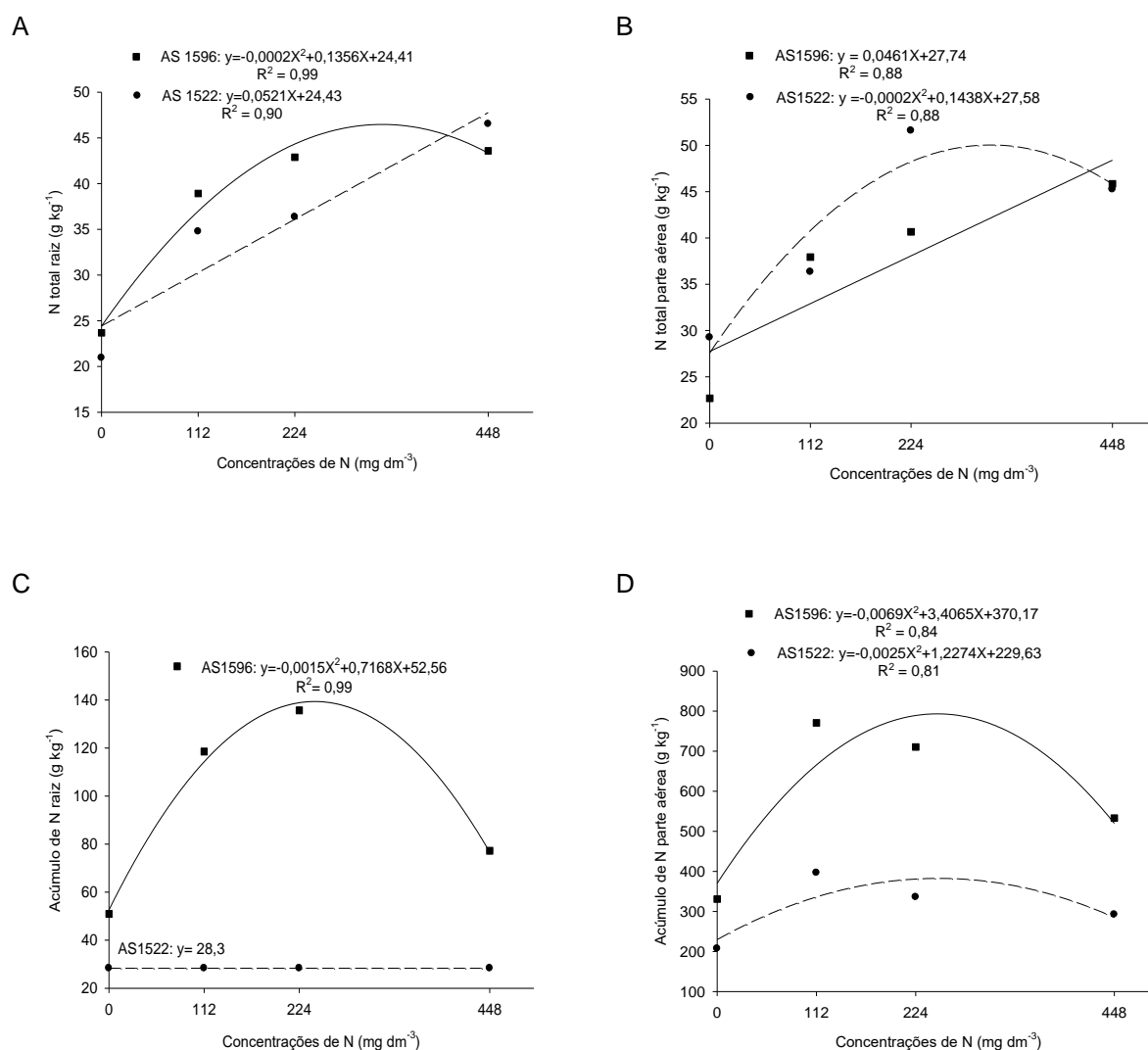


Figura 3. Teor de N total raiz (A) e parte aérea (B) e acúmulo de N na raiz (C) e parte aérea (D), de genótipos de milho em função das concentrações de N em solução nutritiva.

Figure 3. Total root (A) and shoot (B) N content and N accumulation in the root (C) and shoot (D) of maize genotypes as a function of N concentrations in nutrient solution.

Para acúmulo de N na raiz, observou-se que houve significância apenas para as plantas do genótipo AS1596 (Figura 3C), sendo que a dose que proporcionou maior valor para acúmulo foi de 238,93 mg dm⁻³ de N. O aumento obtido com a concentração em questão em relação ao controle foi de 162%. Com relação ao acúmulo de N na parte aérea, ambos os genótipos apresentaram resultados semelhantes para o maior acúmulo, no mesmo teor de N, 246,84 e 245,48 mg dm⁻³ de N, respectivamente, para AS1596 e AS1522 (Figura 3D). No entanto, para o genótipo AS1596, o incremento no acúmulo foi quase o dobro (113%) do observado para o AS1522 (65%).

O ponto de máxima para proteína bruta da raiz foi obtido na dose 325,9 mg dm⁻³ de N para o híbrido AS1596 (Figura 4A). Com relação à proteína bruta total na parte aérea para o híbrido AS1522, a dose que proporcionou maior teor foi de 321,0 mg dm⁻³ de N (Figura 4B).

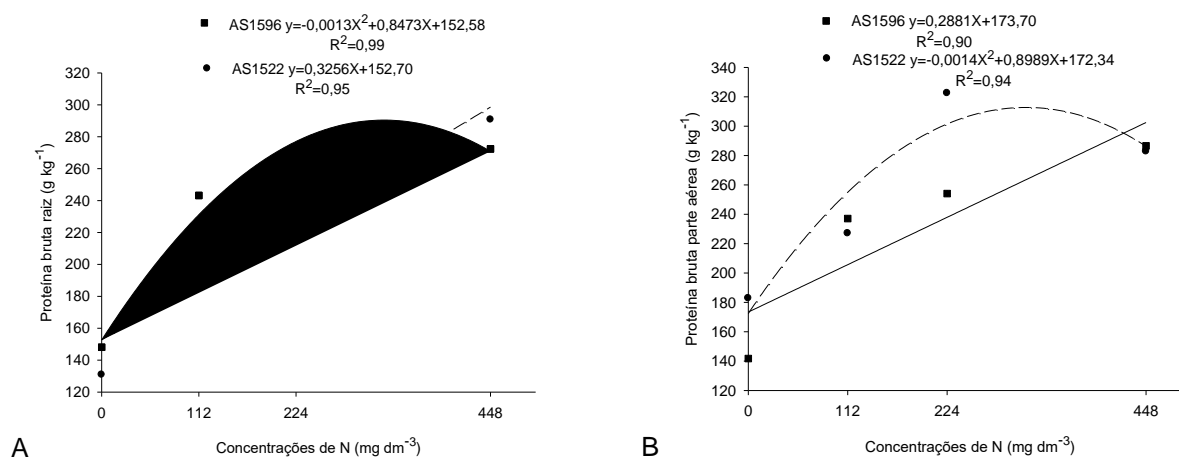


Figura 4. Proteína bruta total na raiz (a) e parte aérea (b) de genótipos de milho em função das concentrações de N em solução nutritiva.

Figure 4. Total crude protein in the root (a) and shoot (b) of maize genotypes as a function of N concentrations in nutrient solution.

Na parte aérea, o máximo da atividade da redutase do nitrato, independente do genótipo, foi obtido com a concentração de 281,2 mg dm⁻³ de N (Figura 5B) para a cultivar AS1522, e para o genótipo AS1596 houve incremento com as doses aplicadas. Ainda, na Figura 5A, verifica-se que após a dose de 307,38 mg dm⁻³ de N houve diminuição da atividade da RN na parte aérea.

Para a atividade da redutase do nitrato na raiz, verificou-se que ambos os genótipos apresentaram resposta quadrática em relação ao aumento do teor de N na solução e que, proporcionaram o melhor desempenho em doses semelhantes (274,3 e 276,2 mg dm⁻³ de N para os genótipos AS1522 e AS1596, respectivamente) (Figura 5A). Porém, o aumento observado pelas concentrações obtidas em relação ao tratamento com deficiência de N (dose zero) apresentou diferença entre os híbridos, com superioridade para o cultivar AS1596 (14,6 vezes maior) em relação ao AS1522.

Com relação a aminoácidos livres totais na raiz do genótipo AS1522, o ponto de máxima foi obtido na dose de 223,9 mg dm⁻³ de N e, para o genótipo AS1596, houve aumento linear com as doses empregadas (Figura 5C). A variação nas concentrações de aminoácidos livres totais da parte aérea apresentou significância apenas para o AS1596, cujo ponto de máxima foi com a concentração de 359,6 mg dm⁻³ de N (Figura 5D). O maior aumento proporcionado com as concentrações citadas, foram de 88 e 189%, respectivamente para aminoácidos livres totais na raiz (AS1522) e parte aérea (AS1596).

Para eficiência de absorção (Figura 6A) os dois genótipos apresentaram resposta linear com o aumento das doses de N e, para a eficiência de utilização, o efeito foi oposto (Figura 6B), ou seja, diminuição linear da eficiência com as doses estudadas. Ressalta-se, ainda, que quanto à eficiência de absorção para ambos os genótipos, na concentração zero, praticamente foram idênticas. No entanto, a aplicação de 1 mg dm⁻³ de N em solução nutritiva resulta em aumentos de 0,41 e 1,25 miligrama de N por grama de massa de matéria seca de raiz, respectivamente, para os genótipos AS1596 e AS1522, ou seja, o ganho proporcionado é quase três vezes maior para o AS1522.

Raciocínio análogo pode ser realizado para a eficiência de utilização, isto é, na concentração zero, ambos os genótipos apresentavam valores distintos, com superioridade para o AS1596. No entanto, o decréscimo da eficiência com as quantidades aplicadas de N na solução nutritiva é maior para o genótipo AS1596 em relação ao AS1522, pois o mesmo perde eficiência cerca de quarenta vezes a mais com 1 mg

dm⁻³ de N aplicado, mostrando que o genótipo AS1522 é mais eficiente na absorção e o genótipo AS1596 é mais eficiente na utilização de N.

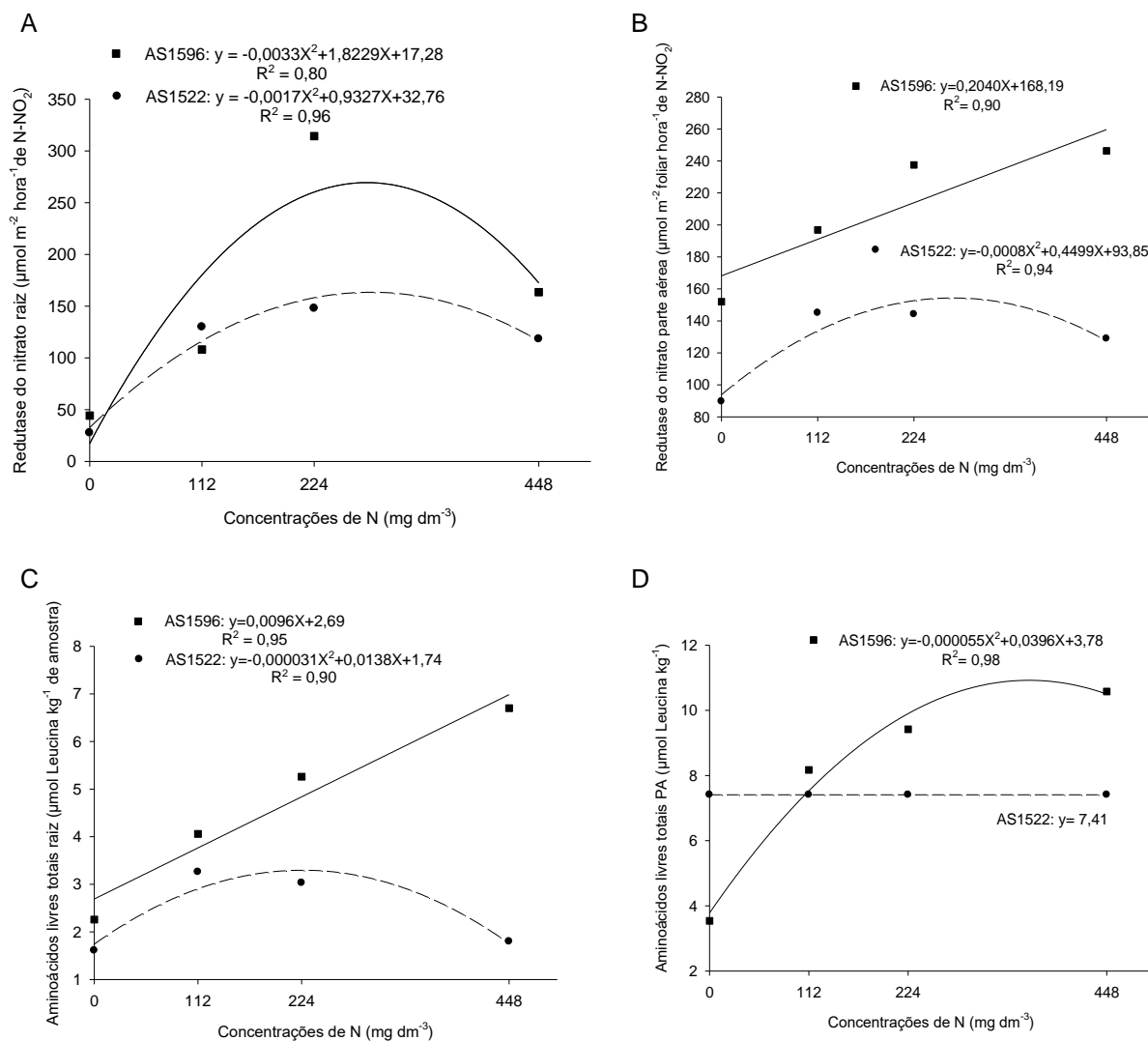


Figura 5. Atividade da redutase do nitrato na raiz (A) e na parte aérea (B), aminoácidos livres totais na raiz (C) e na parte aérea (D), de genótipos de milho em função das concentrações de N na solução nutritiva.
 Figure 5. Nitrate reductase activity in root (A) and shoot (B), total free amino acids in root (C) and shoot (D), of maize genotypes as a function of N concentrations in the nutrient solution.

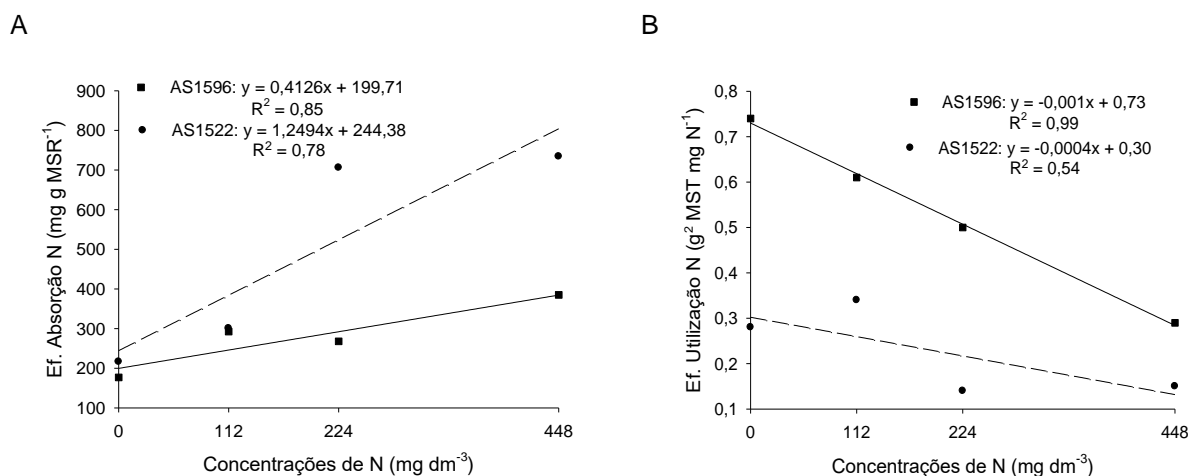


Figura 6. Eficiência de absorção (a) e eficiência de utilização (b) de genótipos de milho em função das concentrações de N na solução nutritiva.
 Figure 6. Uptake efficiency (a) and utilization efficiency (b) of maize genotypes as a function of N concentrations in the nutrient solution.

As variáveis que apresentaram maior ganho em relação ao controle foram: NRR>ANR>ALPA>NTR>ALR=ANPA>NRPA>NTPA>CR>MSR>MSPA>Alt>NF>Dia. Observa-se que, dentre os atributos que apresentaram maiores ganhos em relação ao controle, considerando, que este apresentava zero de nitrogênio, ou seja, deficiência do elemento, três dos cinco atributos eram bioquímicos, indicando que estas avaliações são importantes para situações de estresse nutricional causado pelo elemento. No entanto, as variáveis biométricas analisadas não foram tão satisfatórias.

Para a raiz, observou-se correlação significativa e positiva entre as variáveis: massa de matéria seca e aminoácidos livres totais, teor de nitrogênio total e atividade da redutase do nitrato e teor de nitrogênio e aminoácidos livres. Na parte aérea, as correlações significativas foram observadas entre massa de matéria seca e atividade da redutase do nitrato e teor de nitrogênio total e aminoácidos livres totais.

DISCUSSÃO

Os resultados de interação eram esperados, pois, o milho tem-se mostrado responsivo ao nitrogênio em trabalhos como os de CÂNDIDO et al. (2020) e PETEAN et al. (2019). A interação genótipo X doses de N na maioria das variáveis indica a resposta pontual que cada material vegetal tem em função da aplicação de nitrogênio, ou seja, os fatores não agiram de forma isolada.

O nitrogênio é o maior responsável pelo crescimento vegetativo, logo, as doses de N aplicadas auxiliaram na formação de compostos que proporcionaram uma maior altura da planta e comprimento radicular. Glutamina e glutamato são exemplos de compostos ricos em carbono produzidos durante o ciclo do N, cujas cadeias de carbono formam estruturas para crescimento. MUHAMMAD et al. (2022) aplicando cinco doses de N (200, 250, 300, 350 kg ha⁻¹) encontraram resposta linear para a altura da planta e comprimento radicular de milho híbrido de tamanho uniforme da variedade Zhengda 619, porém com o ganho de apenas 10,7 e 16,5% respectivamente, valores abaixo dos encontrados no presente trabalho.

O aumento do diâmetro do colmo proporciona uma maior resistência ao acamamento ou quebra de planta, conseqüentemente, é muito importante para a obtenção de alta produtividade pois atua como estrutura de armazenamento de sólidos solúveis que servem na formação dos grãos (OLIVEIRA et al. 2022). Um colmo bem desenvolvido significa que tem mais vasos condutores sendo formados para propiciar os fluxos de nutrientes, logo, a dose de N onde se obteve o ponto de máxima para essa variável também foi responsável por causar um maior fluxo de fotoassimilados.

Em relação a massa seca da planta, a diferença entre os dois genótipos testados indica o melhor aproveitamento de N no genótipo AS1596, tendo em vista a importância do nitrogênio na formação de proteínas e conseqüentemente com estruturas que refletem em acúmulo de biomassa. Segundo GALINDO et al. (2021) a maior disponibilidade de N resultante da aplicação de fertilizantes nitrogenados resulta em uma maior biomassa da parte aérea em plantas de milho e trigo.

Em estudo realizado por EFTHIMIADOU et al. (2020) onde observaram que o teor de N na parte aérea da planta é variado pela interação entre híbridos de milho e doses de N aplicadas. Logo, o teor de N verificado na parte aérea do AS1596 pode indicar possível consumo de luxo, devido à diferença encontrada entre teor de N (Figura 3B) e massa de matéria seca (Figura 2B) para esse genótipo, pois a planta absorve o nutriente aplicado, mas não responde em acúmulo de matéria seca, ocorrendo aumento da sua concentração nas raízes da planta.

Tendo em vista que foi aplicada a mesma quantidade N nos dois genótipos estudados e o acúmulo de N no material AS1596 foi quase o dobro do AS1522 pode-se dizer que o primeiro é mais eficiente no uso de N, e para que o N realize todo o seu papel na planta ele precisa ser acumulado. Com relação a eficiência de absorção ser maior no genótipo AS1522 indica que nem sempre o genótipo que mais absorve N é o que melhor utiliza o nutriente, análogo ao que foi encontrado por BORTOLINI et al. (2002) onde afirmam que a não significância do acúmulo de N em milho se deve a baixa taxa de absorção. É interessante salientar a importância de um bom desenvolvimento radicular para que se tenha uma absorção satisfatória, considerando que um sistema radicular bem desenvolvido pode buscar nutrientes em maiores distâncias.

O teor de proteína bruta indica quanto do N acumulado pela planta foi efetivamente convertido em proteína e conseqüentemente proporcionando que a cultura se desenvolva satisfatoriamente, sendo assim as doses onde foram encontrados os pontos de máxima para os dois híbridos avaliados mostram a grande exigência de N dos mesmos para produzir proteína. Trabalhos como os de TAMAT et al. (2019), JENA et al. (2015) e CARPICI et al. (2010), indicam que os maiores teores de proteína bruta foram encontrados com as aplicações de 60, 120 e 200 mg dm⁻³.

Quanto maior a atividade da enzima redutase do nitrato (RN), maior será a eficiência de uso do N tendo em vista o aproveitamento da planta apenas quando está na forma de amônio, daí a importância de

híbridos com tal característica. Através da ação da RN, o nitrato absorvido pelas raízes deve ser reduzido a amônio, assim, permitindo que seja incorporado pelos compostos orgânicos (SILVA 2021). SILVA et al. (2021) encontraram maior atividade da RN proporcional ao aumento das concentrações de N em milho.

Considerando os resultados obtidos, para a cultivar AS1596 verifica-se que houve incremento na atividade da redutase do nitrato e proteína nas raízes até determinada dose de N aplicada (276,2 e 325,9 mg de N dm⁻³, respectivamente), no entanto, para aminoácidos livres neste órgão houve aumento do teor com as doses, portanto, é possível que parte destes aminoácidos tenham sido translocados para parte aérea ou acumulados no vacúolo, considerando que houve incrementos da atividade da redutase do nitrato e proteína na parte aérea, e para aminoácidos livres o ponto de máximo foi de 359,6 mg dm⁻³ de N, ou seja, pode-se inferir que houve translocação da raiz para parte aérea, e posterior acúmulo de aminoácidos neste órgão.

Para a cultivar AS1522 o mesmo raciocínio não pode ser realizado, pois na raiz a atividade da redutase do nitrato e aminoácidos livres o ponto de máxima foram verificados nas doses de 274,3 e 223,9 mg de N dm⁻³, respectivamente, enquanto que o teor de proteína aumentou com as quantidades aplicadas, e na parte aérea a atividade da RN e proteína os pontos de máxima foram verificados nas doses 281,2 e 381,0 mg de N dm⁻³, sendo que para aminoácidos livres não houve diferença para o teor em função dos níveis de nitrogênio, ou seja, houve maior transformação de aminoácidos em proteínas na raiz em relação a parte aérea. Estas inferências realizadas podem auxiliar a explicar a diferença de genótipos mais e menos responsivos a adubação nitrogenada.

BREDEMEIER & MUNDSTOCK (2000), em ampla revisão sobre a absorção do N em plantas e o ciclo do aminoácido entre colmo e raiz, citam que a ação dos aminoácidos sobre a absorção do N não é conhecida, ainda que os altos teores destes inibam a ação dos transportadores de NO₃⁻ na membrana e a síntese da enzima RN. O que explica, por exemplo, a baixa atividade da RN nas raízes do genótipo AS1596 (Figura 5A), após o ponto de máxima e o teor de aminoácidos ter incrementado linearmente nas raízes (Figura 5C), ou seja, um acúmulo de aminoácidos possivelmente levou a uma menor atividade da RN. No entanto, o mesmo não foi observado para o AS1522, indicando que o genótipo AS1596, além de ser mais produtivo, é também mais responsivo ao N.

O teor de aminoácidos livre totais foi maior no genótipo AS1596 indicando superioridade do genótipo em relação a assimilação e remobilização do NH₄⁺. ASTHIR et al. (2018) aplicando 150 e 180 kg ha⁻¹ N observaram maior teor de aminoácidos em trigo, segundo os autores esse resultado é consequência do aumento da atividade de aminotransferases nas doses citadas. Em estudos realizados por NAEEM et al. (2017), onde foi analisado a respostas de híbridos de milho sob estresse hídrico, o acúmulo de aminoácidos livres totais sob estresse pode ser em função da baixa biossíntese ou maior degradação de proteínas. De acordo com PHELAN et al. (1996), quando as plantas são submetidas a algum estresse como, por exemplo, desequilíbrio ou deficiência de nutrientes, a eficiência das vias bioquímicas de síntese de compostos estruturais diminui, causando o acúmulo de aminoácidos e açúcares livres nos tecidos. Essa seria uma possível hipótese para a diferença entre partes da planta de milho (raiz e parte aérea) para o genótipo mais produtivo, em que as raízes acumularam aminoácidos não convertendo os mesmos em proteínas.

Os resultados das correlações confirmam que há relação entre as variáveis possibilitando a avaliação da capacidade de absorção e da remobilização do nitrogênio no desenvolvimento da planta até a sua conversão em proteína. A cultura não se desenvolve de forma isolada, a interação entre as variáveis traz a dependência ou influencia a necessidade de a planta ser analisada sob a ótica macro, considerando todo um sistema. ARGENTA et al. (2002) avaliando dois genótipos de milho (Pioneer 32R21 e Cargill 901) sob 9 doses de N aplicados em cobertura (0, 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500 e 600 kg ha⁻¹) evidenciaram que o teor de N da folha foi a variável que mais esteve relacionada ao rendimento de grãos.

CONCLUSÃO

As maiores diferenças entre os genótipos estudados para as variáveis biométricas massa de matéria 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 se destacou e proporcionou as maiores diferenças entre genótipos.

Variáveis bioquímicas apresentaram as maiores diferenças em relação as variáveis biométricas para indicar deficiência de nitrogênio.

O genótipo AS1596 é mais eficiente no uso do nitrogênio, ou seja, possui maior potencial produtivo com menor quantidade de nitrogênio aplicado.

O emprego de genótipos mais eficientes no uso do N apresentam maior atividade bioquímica e

fisiológica sob condições de estresse nutricional.

AGRADECIMENTOS

À FUNDUNESP e a CAPES, pelo auxílio e bolsa concedidos para a realização da pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ARGENTA G et al. 2002. Parâmetros de planta como indicadores do nível de nitrogênio na cultura do milho. Pesquisa Agropecuária Brasileira 37: 519-527.
- ASTHIR B et al. 2018. Supplementation of nitrogen and its influence on free sugars, amino acid and protein metabolism in roots and internodes of wheat. Cereal Research Communications 46: 658-667.
- BATAGLIA OC et al. 1983. Métodos de análise química de plantas. Campinas: Instituto Agrônomo. 41p. (Boletim Técnico 78).
- BHATLA SC & LAL MA. 2018. Plant physiology, development and metabolism. Nova Deli: Springer. 1200p
- BORTOLINI CG et al. 2002. Sistemas de aplicação de nitrogênio e seus efeitos sobre o acúmulo de N na planta de milho. Revista Brasileira de Ciência do Solo 26: 361-366.
- BREDA FAF et al. 2019. Modulation of nitrogen metabolism of maize plants inoculated with *Azospirillum brasilense* and *Herbaspirillum seropedicae*. Archives of microbiology 201: 547-558.
- BREDEMEIER C & MUNDSTOCK CM. 2000 Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. Ciência Rural 30: 365-372.
- CÂNDIDO ACTF et al. 2020. Nitrogen rates and residual effect of co-inoculation of soybean on maize plants. Revista Caatinga 33: 633-643.
- CARPICI EB et al. 2010. Corn productivity and quality forage influenced by plant density and dose of nitrogen. J Field Harvests 15: 128-132.
- CARVALHO RP et al. 2012. Eficiência de cultivares de milho na absorção e uso de nitrogênio em ambientes de cada de vegetação. Semina. Ciências Agrárias 33: 2125-2136.
- EFTHIMIADOU A et al. 2020. Effect of foliar and soil application of plant growth promoting bacteria on growth, physiology, yield and seed quality of maize under Mediterranean conditions. Scientific reports 10: 1-11.
- EPSTEIN E & BLOOM A. 2006. Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas. Londrina: Editora Planta. 401p.
- FAGERIA NK. 1998. Otimização da eficiência nutricional na produção das culturas. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental 2: 6-16.
- FERREIRA DF. 2019. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs: Sisvar. Brazilian Journal of Biometrics 37: 529-535.
- GALINDO FS et al. 2021. Nitrogen use efficiency and recovery in a wheat-corn rotation under tropical savannah conditions. Nutrient Cycling in Agroecosystems 119: 291-305.
- GONDIM ARO et al. 2010. Eficiência nutricional do milho cv. BRS 1030 submetido à omissão de macronutrientes em solução nutritiva. Revista Ceres 57: 539-544.
- JAWORSKI EG. 1971. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. Biochemical and Biophysical Research Communications 43: 1274- 1279.
- JENA N. et al. 2015. Effect of nitrogen and phosphate fertilizers on the growth and yield of quality protein maize (QPM). Intern. J Sci. Res. 4: 1839-1840.
- KALISZ A et al. 2019. Survey of 17 elements, including rare earth elements, in chilled and non-chilled cauliflower cultivars. Scientific reports 9: 1-14.
- LAMBERS H & OLIVEIRA RS. 2019. Growth and allocation. In: Plant physiological ecology. Perth: Springer. p.385-449.
- MĂLINAȘ A et al. 2022. Current Status and Future Prospective for Nitrogen Use Efficiency in Wheat (*Triticum aestivum* L.). Plants 11: 217.
- MOORE S. 1968. Amino acids analysis: Aqueous dimethylsulfoxide as solvent for the ninhidrin reaction. Journal Biology Chemistry 243: 6281-6283.
- MUHAMMAD I et al. 2022. Nitrogen fertilizer modulates plant growth, chlorophyll pigments and enzymatic activities under different irrigation regimes. Agronomy 12: 845
- NAEEM M et al. 2017. Improving drought tolerance in maize by foliar application of boron: water status, antioxidative defense and photosynthetic capacity. Archives of agronomy and soil science 64: 626-639.
- OLIVEIRA MA et al. 2022. Trinexapac-ethyl application time in the crop corn agronomic performance grown under different plant arrangements. Semina: Ciênc. Agrár. 43: 809-826.
- PETEAN CC et al. 2019. Polímeros orgânicos com ureia dissolvida e doses de nitrogênio no milho. Revista de Ciências Agrárias 62: 1-9.
- PHELAN PL et al. 1996. Soil-Management history and host preference by *Ostrinia nubilalis*: Evidence for plant mineral balance mediating insect-plant interactions. Environmental Entomology 25: 1329-1336.
- SCHIMITZ TH et al. 2010. Avaliação de cultivares de milho do ensaio centro precoce normal em Dois Vizinhos-PR, safra 2009-2010. Seminário: Sistemas de Produção Agropecuária 3: 1-6.
- SILVA ES et al. 2021. Response of corn seedlings (*Zea mays* L.) to different concentrations of nitrogen in absence and presence of silicon. Silicon 13: 813-818.
- SILVA MMD. 2021. Mudanças no perfil metabólico de *Guzmania monostachia* (Bromeliaceae) resultantes do estresse

- hídrico e cultivo em nitrato como fonte única de nitrogênio. Dissertação (Mestrado em botânica). São Paulo: USP. 51p.
- TAIZ L et al. 2017. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. Porto Alegre: Artmed.
- TOCA A et al. 2022. Environmental conditions in the nursery regulate root system development and architecture of forest tree seedlings: a systematic review. *New Forests* 53: 1113–1143.
- ULLAH H et al. 2019. Improving water use efficiency, nitrogen use efficiency, and radiation use efficiency in field crops under drought stress: A review. *Advances in agronomy* 156: 109-157.
- ZEFFA DM et al. 2019. *Azospirillum brasilense* promotes increases in growth and nitrogen use efficiency of maize genotypes. *Plos one* 14: e0215332.