

ATIVIDADE DA REDUTASE DO NITRATO EM GENÓTIPOS ANTIGOS E MODERNOS DE MILHO, CULTIVADOS SOB DOIS NÍVEIS DE NITROGÊNIO¹

ANTONIO ALVARO CORSETTI PURCINO², RICARDO MAGNAVACA³,
ALTAIR TOLEDO MACHADO⁴ e IVANILDO EVÓDIO MARRIEL⁴

Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, EMBRAPA, CP 151, Sete Lagoas, MG, 35700-000, Brasil.

RESUMO- O objetivo desse experimento foi verificar a existência de correlação entre a atividade da redutase do nitrato (RN) e a produtividade de espigas em 15 genótipos de milho (*Zea mays* L.) cultivados no Brasil desde a década de 1940. O experimento foi conduzido no campo, em parcelas subdivididas, com os genótipos nas parcelas e os níveis de 20 kg/ha e 60 kg/ha de N nas subparcelas. Cada tratamento foi repetido 3 vezes. As amostras foliares para determinação da atividade da RN foram colhidas aos 3 dias antes e 20 e 42 dias depois do embonecamento de cada genótipo, sempre da mesma folha, o que na primeira amostragem correspondeu à folha mais jovem completamente desenvolvida e oposta à espiga principal. As amostragens foram sempre realizadas entre 9 e 10 horas da manhã. Os resultados obtidos mostraram que houve ganho genético para produtividade entre os genótipos antigos e modernos utilizados nesse trabalho, e que havia variabilidade nos valores de atividade da RN nos três estádios em que as plantas foram amostradas, mas essa atividade não se correlacionou significativamente com a produtividade de espigas secas. Observou-se também nesse experimento que apesar da adubação nitrogenada ter aumentado significativamente a produtividade de espigas, a adubação com esse nutriente não teve qualquer efeito na atividade da RN.

Termos adicionais para indexação: *Zea mays*.

NITRATE REDUCTASE ACTIVITY IN OLD AND MODERN GENOTYPES OF MAIZE GROWN UNDER TWO NITRATE LEVELS

ABSTRACT- The objective of this experiment was to determine a possible correlation between grain yield and the nitrate reductase activity (NR) of 15 maize genotypes, grown commercially in Brazil since the 1940's. The experimental lay-out was a split-plot design with genotypes assigned to main plots and two levels of nitrogen (20 and 60 kg/ha) to the sub-plots, each treatment replicated 3 times. The youngest fully developed leaves per treatment, opposite to the main ear, were sampled 3 days before and 20 and 42 days after silking,

¹Recebido em e aceito em

²Eng. Agr., PhD, Bolsista do CNPq.

between 9 and 10 AM for NR determinations. Results showed genetic progress for grain yield among the old and modern genotypes and a large variability for NR values under the conditions of this study, but no numerical correlation was found between grain yield and NR. Although nitrogen fertilization increased grain yield, no effect for this nutrient was found on NR.

Additional index terms: *Zea mays*.

INTRODUÇÃO

A redutase do nitrato (RN) é considerada enzima chave na regulação do metabolismo do N, já que o nitrato absorvido pelas raízes deve ser reduzido a NH_4^+ antes de ser incorporado em compostos orgânicos no sistema radicular e/ou na parte aérea.

Por causa desse seu papel regulador da disponibilidade de N reduzido para o metabolismo das plantas, principalmente em solos onde o nitrato é a principal forma de N disponível, tem-se sugerido que a atividade da RN está relacionada com a produtividade do milho e/ou sua capacidade em responder à adubação nitrogenada (Beevers & Hageman, 1969).

Vários trabalhos experimentais, geralmente utilizando genótipos originários de regiões temperadas, já foram conduzidos para testar essa hipótese e avaliar a possibilidade de se utilizar a atividade dessa enzima como ferramenta auxiliar no desenvolvimento de materiais mais produtivos, mais responsáveis à adubação nitrogenada ou mais eficientes no uso desse nutriente.

Deckhard et al (1973), trabalhando com 6 híbridos comerciais temperados nos EUA, observaram pequena mas significativa correlação entre a atividade da RN e a produtividade de grãos, quando a análise da atividade enzimática foi realizada durante o período de aparecimento do estilo-estigma (embonecamento). Mais tarde, Hageman et al (1976) trabalhando com 35 híbridos comerciais de milho notaram que apesar de significativa, as correlações entre a produtividade de grãos e a atividade da RN eram baixas. De acordo com

Sherrard et al (1984), estas baixas correlações indicam que outros fatores além da atividade da RN têm forte influência na assimilação de NO_3^- e na produtividade de grãos e de proteínas nos grãos de milho.

Em outro experimento, Muruli & Paulsen (1981), trabalhando com 100 progênies de meios-irmãos da população "Mex-Mix" do CIMMYT selecionadas para uso eficiente de N, detectaram correlação significativa entre a produtividade de grãos e a atividade da RN durante a antese, mas não quando as plantas tinham uma semana de idade, sendo que esses são os períodos em que as plantas de milho apresentam picos de atividade para essa atividade enzimática (Balasubramaniam et al, 1977).

Por outro lado, Eichelberger et al (1989 a) depois de 8 ciclos de seleção fenotípica recorrente com o BSSS (versão de Illinois do "Iowa Stiff Stalk Selection") conseguiram uma linhagem com atividade da RN 46% mais alta e outra 60% mais baixa em relação ao material que não foi melhorado e, demonstraram que a atividade da RN não se correlacionou com a produtividade de grãos. Concluíram então, que a atividade da RN não era critério adequado para ser utilizado como parâmetro no melhoramento daquele material, visando aumento de produtividade.

Também trabalhando com o BSSS, Fakorede & Mock (1978) observaram que a seleção realizada para aumento de produtividade não foi acompanhada por aumentos na atividade da RN. Pelo contrário, em um caso, a produtividade de grãos correlacionou com diminuição da atividade da RN. Deve-se salientar entretanto, que este milho já havia sido melhorado intensamente para alta produtividade sob altos níveis de adubação nitrogenada e portanto já havia sido indiretamente selecionado para ter níveis adequados da atividade da RN.

Segundo Eichelberger et al (1989 b) seria interessante selecionar para atividade da RN em populações não melhoradas de milho e, verificar suas correlações com a produtividade e outros parâmetros de eficiência de uso de N.

Tendo em vista esses resultados, instalou-se um experimento cujo objetivo foi verificar a possível existência de correlação entre a produtividade de grãos e a atividade da RN em 15 genótipos tropicais de milho de ampla base genética cultivados nos últimos 40 anos, sendo que alguns desses materiais foram desenvolvidos quando não se fazia ainda uso de adubação nitrogenada no Brasil, enquanto que os genótipos modernos foram desenvolvidos sob altos níveis de fertilização mineral.

MATERIAL E MÉTODOS

Esse experimento foi instalado em Sete Lagoas, em um latossolo vermelho amarelo-fase cerrado, no ano agrícola 1989/1990, com 15 genótipos (parcelas) sob dois níveis de adubação nitrogenada (20 e 60 kg/ha de

N na forma de uréia), (subparcelas) em blocos ao acaso, cada tratamento repetido 3 vezes. Cada subparcela tinha 4 fileiras de 5 m de comprimento, espaçadas de 1 m, sendo que todas medições foram realizadas nas duas fileiras centrais. Antes do plantio a área experimental sofreu calagem e adubação basal com P, K, S e micronutrientes de acordo com a análise do solo e a recomendação da Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais (1989). Depois da calagem o solo apresentava as seguintes características: pH 6.3; matéria orgânica 3.31%; saturação de Al^{3+} 0.00%; Ca^{2+} 4.99; Mg^{2+} 1.07; Al^{3+} 0.00 (expressos como eq mg/100cm³); K 60 e P 16 (espressos como mg/kg).

A análise da atividade da RN foi realizada de acordo com o protocolo *in vivo* descrito por Hagemam & Reed (1980). Em 20 mL de um meio de reação constituído de 0.1 M de K_2HPO_4 pH 7.5, 0.1 M KNO_3 , 1% propanol e 0.05% de neutronix, incubou-se 0.5 g de discos foliares a 30 °C em banho-maria com agitação, em ausência de luz. Retiraram-se alíquotas de 0.5 mL aos 10 e 40 min, quando a reação foi paralizada pela adição de 0.5 ml de uma solução de sulfanilamida 1% dissolvida em 1.5 N de HCl. O nitrito produzido foi determinado pela adição de N(1-naftil)-etilenodiaminadihidroclorato a 0.02% e determinação da absorbância a 540 nm. Experimentos preliminares foram conduzidos para se otimizar o pH, o tempo de incubação, a concentração de propanol e estudar o efeito da infiltração a vácuo do meio de reação (resultados não mostrados). Em cada subparcela os discos foliares foram colhidos 3 dias antes e 20 e 42 dias depois do embonecamento, sempre entre 9 e 10 h da manhã, quando as plantas já tinham recebido pelo menos 3 h de sol e a RN já tinha atingido a sua atividade máxima (Lillo & Ruoff, 1989). Os discos foliares foram retirados do terço médio da primeira folha acima e oposta à espiga principal, sendo que no mínimo 15 plantas foram amostradas por subparcela, formando uma amostra composta de cada tratamento, em cada época de determinação da atividade da RN. A matéria seca das espigas colhidas após a formação da camada preta dos grãos foi corrigida para 13% de umidade.

A análise estatística para produção de espigas foi realizada utilizando-se o programa de computador MSTATC, considerando o desenho experimental como blocos ao acaso com parcelas subdivididas repetidos 3 vezes, com 15 parcelas (vars) e duas subparcelas (níveis de N). No caso da análise da atividade da RN, considerou-se as épocas de amostragens como sub-subparcela. As comparações de médias foram feitas pelo teste de Duncan a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As características dos materiais genéticos utilizados nesse experimento são mostradas na Tabela 1. São considerados antigos os genótipos tardios e de porte alto desenvolvidos antes da década de 1970, enquanto

os genótipos modernos são aqueles precoces, de porte baixo, desenvolvidos depois de 1970. Foram plantados híbridos simples, duplos e vars de polinização aberta, sempre com predominância da origem tropical. O híbrido Minas 2 foi um dos primeiros a ser produzido no Brasil na década de 1940, enquanto o BR 201 é um híbrido moderno que incorpora características de tolerância à toxidez de alumínio e eficiência no uso de

TABELA 1- Características dos materiais genéticos utilizados e ano em que foram produzidos.

Br 201	Híbrido duplo, tolerante a alumínio, eficiente no uso de fósforo, precoce, porte baixo - 1988
BR 201-M	Híbrido simples, precoce, baixo (Duros do Caribe) - 1988
BR 201-F	Híbrido simples, precoce, baixo (Tuxpeño) - 1988
Maya 13 C ₄	Derivado da raça Tuxpeño
HS 20x22	Híbrido simples, precoce, baixo (Tuxpeño) - 1988
BR 105	Var selecionada do Suwan 1, derivada de duros do Caribe, precoce, baixa - 1976
BR 107	Var precoce, baixa, com base em Cateto, Eto e duros do Caribe - 1976
Pioneer 6875	Híbrido duplo, cruzamento de material tropical X temperado, precoce, baixo - 1983
Cateto Sete Lagoas	Var local, tardia, alta, grãos duros da raça Cateto originária do Brasil Central - 1945
Minas 2	Híbrido duplo, do cruzamento Tuxpan X Catete, alto, tardio - 1950
CMS 22	Var precoce, baixa, cruzamento de Tuxpeño com dentados do Corn Belt dos EUA - 1976
BR 451	Derivado da população 64 do CIMMYT, raça Tuxpeño, dentado, precoce, baixo, com grãos opaco-2 selecionado para dureza do grão, QPM-1986
Azteca	População derivada do Tuxpeño, alta, tardia, semi dentado - 1960
Sintético Elite	Recombinação de linhagens elites, principalmente Tuxpeños e duros do Caribe, precoce, baixo - 1983
BR 106	Populações dentadas derivadas da raça Tuxpeño, precoce, baixa - 1976

fósforo (Lopes et al, 1988). Entre as vars, a mais antiga é a Cateto Sete Lagoas, cultivada há várias décadas e que nunca sofreu processo de melhoramento, enquanto a var Maya 13 C₄ já passou por vários ciclos de seleção e tem alta capacidade de produção. A população Sintético Elite entrou nesse experimento como material com alta capacidade de produção.

A tabela 2 mostra os dados de produtividade de espigas para os dois níveis de N utilizados nesse experimento. Nesses níveis, observa-se que os materiais mais modernos, tanto híbridos quanto variedades, foram geralmente mais produtivos que os antigos ou os que não passaram por processo de melhoramento ao longo dos anos. O híbrido duplo BR 201 e os híbridos simples BR 201-M, BR 201-F e o HS 20x22, considerados modernos, produziram significativamente mais que o híbrido antigo Minas 2. O progresso genético também ficou claro entre as variedades de grãos duros, já que os materiais

modernos BR 105 e BR 107 produziram mais que a variedade antiga Cateto Sete Lagoas. Entre os materiais dentados ou semi-dentados, observou-se que os genótipos antigos (Azteca e Maya 13 C₄) que ainda estão sendo melhorados, são tão ou

TABELA 2- Produtividade de espigas secas (kg ha⁻¹) de genótipos de milho tropicais cultivados sob dois níveis de N.

Genótipo	kg ha ⁻¹ de N	
	20	60
BR 201	8056 A a	8171 A bc
Sintético Elite	7016 A abc	7539 A bcd
Maya 13 C ₄	8184 A a	8391 A b
BR 201 M	7720 A ab	7790 A bc
BR 201 F	7028 B abc	8373 A b
HS 20x22	7818 B ab	9788 A a
BR 106	6086 B cd	7797 A bc
BR 105	5482 B de	6694 A cdef
BR 107	5696 A d	5934 A f
Pioneer 6875	6628 A bcd	6544 A def
Cateto Sete Lagoas	4461 B e	5793 A f
Minas 2	5375 B de	6413 A def
CMS 22	6355 A cd	6304 A def
BR 451	5946 A cd	6132 A ef
Azteca	7793 A ab	7373 A bcde

Comparações de médias por Duncan 5%. Letras maiúsculas para comparação dentro da mesma linha e letras minúsculas dentro da mesma coluna.

mais produtivos que os de características modernas (CMS 22, Sintético Elite e BR 106).

Os materiais BR 201-F, HS 20x22, BR 106, BR 105, Cateto Sete Lagoas e Minas 2 produziram significativamente mais espigas secas na presença de 60 kg/ha de N que na presença de 20 kg/ha, enquanto que os outros materiais testados não tiveram capacidade de responder, em termos de produtividade, a este incremento no nível da adubação nitrogenada.

Os dados da Tabela 2 mostram ainda que entre os genótipos que produziram mais de 7000 kg/ha de espigas no nível de 20 kg/ha de N, somente os híbridos simples BR 201-F e HS 20x22 foram capazes de aumentar significativamente a produtividade quando se aumentou a adubação nitrogenada para 60 kg/ha. Esses materiais, além de eficientes no uso de N, são também responsivos à adubação com esse nutriente. Observa-se também nessa tabela, que entre os materiais mais produtivos no nível mais baixo da adubação nitrogenada, aparecem os genótipos tardios de porte alto, Maya 13 C₄ e Azteca, sendo que esse último não passou por seleção recorrente nos últimos anos.

Os dados da Tabela 3 mostram que a atividade da RN não foi diferente entre os níveis de adubação com N (1.99 x 1.82). Como ela é fortemente induzida pelo substrato (Beevers & Hageman, 1969) e maior disponibilidade de nitrato no meio de crescimento aumenta seus valores (Vasconcellos et al, 1978),

TABELA 3- Atividade da redutase do nitrato (RN) *in vivo* (mmoles kg⁻¹ h⁻¹ de NO₂⁻) em genótipos de milho cultivados sob dois níveis de adubação nitrogenada. A atividade da RN dentro de cada nível de N é a média obtida entre os três estádios de crescimento das plantas.

Genótipos	Atividade da RN	
	20 kg ha ⁻¹ N	60 kg ha ⁻¹ N
BR 201	1.94	1.77
Sintético Elite	2.46	2.05
Maya 13 C ₄	1.69	1.57
BR 201-M	1.55	1.61
BR 201-F	2.20	1.70
HS 20x22	1.86	1.82
BR 106	2.18	1.82
BR 105	1.70	1.68
BR 107	2.07	2.18
P 6875	2.27	2.00
Cateto Sete Lagoas	1.83	1.49
Minas 2	2.03	1.88
CMS 22	1.68	1.83
BR 451	2.25	2.07
Azteca	2.17	1.81
média	1.99 a	1.82 a

Comparações entre médias por Duncan 5%.

TABELA 4- Atividade da redutase do nitrato (RN) *in vivo* (mmoles kg⁻¹ h⁻¹ de NO₂⁻) em genótipos de milho em três estádios de desenvolvimento das plantas. A atividade da RN dentro de cada estádio é a média obtida entre os níveis de 20 e 60 kg ha⁻¹ de N.

	Estádio 1	Estádio 2	Estádio 3
BR 201	2.00 A abc	2.06 A abc	1.50 A cde
Sintético Elite	2.00 A abc	2.52 A a	2.24 A a
Maya 13 C ₄	1.62 A c	1.80 A c	1.47 A cde
BR 201 M	1.85 A abc	1.74 A c	1.16 B e
BR 201 F	2.36 A a	1.97 AB bc	1.51 B cde
HS 20x22	2.35 A a	1.67 B c	1.51 B cde
BR 106	1.94 AB abc	2.37 A ab	1.68 B bcde
BR 105	1.79 A bc	1.61 A c	1.67 A bcde
BR 107	2.10 AB abc	2.52 A a	1.77 B abcd
Pioneer 6875	2.18 A ab	2.10 A abc	2.12 A ab
Cateto Sete Lagoas	1.61 A c	1.81 A c	1.55 A cde
Minas 2	2.04 A abc	2.40 A ab	1.43 B de
CMS 22	2.01 A abc	1.61 A c	1.65 A bcde
BR 451	2.16 A ab	2.36 A ab	1.98 A abc
Azteca	1.60 B c	2.42 A ab	1.95 AB abcd

Comparações entre médias por Duncan 5%. Letras maiúsculas para comparações dentro da mesma linha, letras minúsculas dentro da mesma coluna. Estádios 1, 2 e 3, referem-se a determinações da atividade da RN realizadas 3 dias antes e 20 e 42 dias depois do embonecamento, respectivamente.

TABELA 5- Coeficientes de correlação entre a matéria das espigas secas (MES) e a atividade da RN.

	RN1	RN2	RN3
MES (20 kg ha ⁻¹ N)	0.054 ^{ns}	-0.129 ^{ns}	-0.123 ^{ns}
MES (60 kg ha ⁻¹ N)	0.233 ^{ns}	-0.261 ^{ns}	-0.315 ^{ns}

RN1 - atividade da RN 3 dias antes do embonecamento, RN2 - atividade da RN 20 dias depois do embonecamento e RN3 - atividade da RN 42 dias depois do embonecamento.

ns - não significativo

esperava-se que a atividade da RN fosse maior no nível de 60 kg/ha de N, o que não se verificou. A análise dos efeitos da aplicação de níveis de N também mostrou que as interações N x estádio, N x var e N x var x estádio não foram estatisticamente significantes.

Os dados da Tabela 4 mostram que a atividade da RN foi significativamente influenciada pelo estádio (P < 0.1), pela var (P < 0.001) e pela interação estádio x var (P < 0.001).

Observa-se no estádio 1 (3 dias antes do embonecamento) que as variedades antigas Maya 13 C₄ (1.62), Cateto Sete Lagoas (1.61) e Azteca (1.60) mostravam uma atividade da RN significativamente menor que o híbrido antigo MG-2 (2.04), o qual por sua vez, mostrou uma atividade da RN comparável aos híbridos mais modernos. Já entre os materiais modernos, a separação entre variedades e híbridos não foi tão clara, e apenas a var BR 105 (1.79) mostrou uma atividade da RN significativamente menor que nos híbridos BR 201-F (2.36) e HS 20x22 (2.35).

No estádio 2 (20 dias depois do embonecamento) a atividade da RN das variedades Maya 13 C₄ (1.80) e Cateto Sete Lagoas (1.81) continuou a ser menor que a do híbrido MG-2 (2.40), que entretanto foi igualada pela atividade da RN da var Azteca (2.42). Entre os genótipos modernos continuou a não existir diferenciação nítida entre variedades e híbridos, sendo que as variedades Sintético Elite (2.52), BR 107 (2.52), BR 106 (2.37) e BR 451 (2.36) mostraram uma atividade da RN significativamente maior que nos híbridos simples BR 201-M (1.74) e HS 20x22 (1.67).

No estádio 3 (42 dias depois do embonecamento), entre os genótipos antigos não apareceram diferenças entre o híbrido MG-2 (1.43) e as variedades Maya 13 C₄ (1.47), Cateto 7 Lagoas (1.55) e Azteca (1.95). Nesse estádio, entre os materiais modernos, o híbrido duplo Pioneer 6875 (2.12) mostrou uma atividade da RN significativamente maior que os híbridos simples BR 201-M (1.16), BR 201-F (1.51) e HS 20x22 (1.51). Entre as variedades, a Sintético Elite (2.24) mostrou uma atividade da RN maior que a CMS 22 (1.65), a BR 105 (1.67) e a BR 106 (1.68). Observou-se também que a atividade da RN das variedades Sintético Elite (2.24) e BR 401 (1.98) foi significativamente maior que do híbrido simples BR 201-M (1.16), mas aparentemente não foi possível separar as variedades modernas dos híbridos modernos pela atividade da RN.

A Tabela 4 mostra ainda que os genótipos utilizados nesse experimento podem ser subdivididos em três grupos quanto ao efeito do estágio de desenvolvimento das plantas na atividade da RN. No primeiro podem ser incluídos aqueles genótipos em que a atividade da RN se manteve relativamente estável entre os estádios 1 e 3, como nas variedades Maya 13 C4, Cateto 7 Lagoas, Sintético Elite, BR 105, CMS 22, BR 451 e os híbridos duplos BR 201 e Pioneer 6875. Um segundo grupo seria constituído pelos materiais em que a atividade da RN no estágio 3 é significativamente menor que nos estádios 1 e/ou 2, como as variedades BR 106 e BR 107, o híbrido duplo MG-2, e os híbridos simples BR 201-M, BR 201-F e HS 20x22. Na variedade Azteca, a atividade da RN teve comportamento um pouco diferente desses dois grupos, pois aumentou consideravelmente do estágio 1 para o 2 e depois baixou para um nível intermediário. Um ponto interessante desses dados é o fato de que, independente do material ser antigo ou moderno, seis das nove variedades apareceram no grupo 1, enquanto nos híbridos, quatro entre seis, apareceram no grupo 2, ou seja, as variedades tenderam a ter uma atividade da RN mais estável, enquanto os híbridos aparentemente tenderam a ter uma diminuição significativa na atividade da RN no estágio 3 de desenvolvimento das plantas.

TABELA 6- Produtividade de espigas secas (kg ha^{-1}) e atividade da redutase do nitrato (RN) ($\text{mmoles kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ de NO_2^-) de quatro genótipos responsivos à adubação (kg ha^{-1} de N) nitrogenada que se diferenciaram com relação a produtividade.

Genótipos	Massa de espigas		Atividade da RN	
	20	60	20	60
Modernos				
BR 201-F	7028 B a	8373 A b	2.20 A a	1.70 A a
HS 20x22	7818 B a	9788 A a	1.86 A a	1.82 A a
Antigos				
Minas 2	5375 B b	6143 A c	2.03 A a	1.88 A a
Cateto Sete Lagoas	4461 B b	5793 A c	1.83 A a	1.49 A a

Comparações entre médias por Duncan 5%. Letras maiúsculas para comparações dentro da mesma linha

O objetivo desse trabalho foi verificar a possível existência de correlação entre os dados de atividade da RN e as produtividades de espigas secas. A não significância dos coeficientes de correlação que aparecem na Tabela 5 indica que a produção de espigas secas não estava associada aos valores da atividade da RN *in vivo* nas folhas do milho, no período compreendido entre 3 dias antes e 42 dias depois do embonecamento, quando as plantas foram cultivadas nos dois níveis de adubação nitrogenada usada nesse experimento.

Essa ausência de correlação entre a atividade da RN e a produtividade de espigas pode ser facilmente observada na Tabela 6, que mostra dois grupos de

genótipos que responderam à adubação nitrogenada e que tiveram produtividades significativamente diferentes entre si. Por esses dados verifica-se que os aumentos de produtividade causados pela adubação nitrogenada não foram acompanhados por aumentos na atividade da RN e, que a atividade da RN dos genótipos mais modernos e produtivos não foi superior à dos genótipos antigos menos produtivos.

Cacco et al (1983) observaram em 12 híbridos temperados de milho lançados entre 1930 e 1975, que os ganhos de produtividade obtidos pelos ciclos de seleção, aconteceram porque os materiais genéticos mais modernos apresentavam maiores atividades enzimáticas para a RN e a ATP-sulfurilase e maiores capacidades de absorção de NO_3^- e SO_4^{2-} . Os resultados desses autores não apoiam o conceito de que os aumentos de produtividade dos híbridos modernos foram devidos somente à heterose - definida por Hageman et al (1967) como "uma melhor organização entre múltiplas formas enzimáticas" - já que os híbridos estudados tinham o mesmo nível de heterozigose. Em outro trabalho (Saccomani et al, 1984), mostraram que os híbridos modernos são mais produtivos porque têm maiores capacidades de absorção (maiores V_{max}) e assimilação de N (maiores atividades da RN), mas são mais exigentes em adubação que os genótipos antigos por causa da perda de afinidade do sistema de transporte (maiores K_m).

Os dados desse experimento corroboram as observações de Fakorede & Mock (1978) que indicaram que os ganhos de produtividade nos ciclos de seleção do milho BSSS também não foram acompanhados de aumentos na atividade da RN e, aparentemente dão suporte ao conceito de que os aumentos de produtividade são devidos à melhor organização das múltiplas isoformas enzimáticas nos genótipos mais produtivos e, não são necessariamente acompanhados de aumentos na atividade da RN.

Outros sistemas enzimáticos como as peroxidases (Ivanova & Peive, 1973) e fotoquímicos (Naik et al, 1976), também são capazes de reduzir nitrato a amônia, mas é bastante provável que nesse experimento a atividade da RN não tenha sido fator limitante na produção de espigas mesmo no nível mais baixo da adubação nitrogenada, já que o efeito do fertilizante na produtividade não foi observado nessa atividade enzimática. Como já observado anteriormente (Purcino et al, 1992), quando a quantidade ou a atividade de uma enzima não limita a produtividade da planta mesmo no nível mais baixo de N, a alocação do N suplementar tende a ser dirigida para a síntese *de novo* das enzimas que estavam realmente limitando a produção.

REFERÊNCIAS

- BALASUBRAMANIAN, V.; SHANTHAKUMARI, P.; SINHA, S.K. $^{14}\text{CO}_2^-$ fixation and nitrate reductase activity "in

- vivo" in relation to hybrid vigour in maize. **Indian Journal of Experimental Botany**, New Delhi, 15:780-782, 1977.
- BEEVERS, L. & HAGEMAN, R.H. Nitrate reduction in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, 20:495-522, 1969.
- CACCO, G.; SACCOMANI, M.; FERRARI, G. Changes in the uptake and assimilation efficiency for sulfate and nitrate in maize hybrids during the period 1930 through 1975. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, 58:171-174, 1983.
- COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**, 4ª aproximação, Lavras, MG, 1980. 176p.
- DECKHARD, E.L.; LAMBERT, R.R.; HAGEMAN, R.H. Nitrate reductase activity in corn leaves as related to yields of grain and grain protein. **Crop Science**, Madison, 13:343-350, 1973.
- EICHELBERGER, K.D.; LAMBERT, R.J.; BELOW, F.E.; HAGEMAN, R.H. Divergent phenotypic recurrent selection for nitrate reductase activity in maize. I-selection and correlated responses. **Crop Science**, Madison, 29:1393-1397, 1989a.
- EICHELBERGER, K.D.; LAMBERT, R.J.; BELOW, F.E.; HAGEMAN, R.H. Divergent phenotypic recurrent selection for nitrate reductase activity in maize. II- efficient use of fertilizer nitrogen. **Crop Science**, Madison, 29: 1398-1402, 1989b.
- FAKOREDE, M.A.B. & MOCK, J.J. Nitrate reductase activity and grain yield of maize cultivar hybrids. **Crop Science**, Madison, 18:680-682, 1978.
- HAGEMAN, R.H.; LAMBERT, R.J.; LOWSSAERT, D.; DALLING, M. KLEPPER, L.A. Nitrate and nitrate reductase as factors limiting protein synthesis. IN: **Genetic improvement of seed proteins**. Workshop Proc. Natl. Acad. Sci., Washington D.C., 1976. p.103-131.
- HAGEMAN, R.H.; LAY, E.R.; DUDLEY, J.W. A biochemical approach to corn breeding. **Advances in Agronomy**, New York, 19:45-86, 1967.
- HAGEMAN, R.H. & REED, A.J. Nitrate reductase from higher plants. **Methods in Enzymology**, San Diego, 69:270-280, 1980.
- IVANOVA, N.N. & PEIVE, Y. Nitrate reduction by higher plant peroxidase. **FEBS Letters**, Amsterdam, 31:229-232, 1973.
- LILLO, C. & RUOFF, P. An unusually rapid light induced nitrate reductase mRNA pulse and circadian oscillations. **Naturwissenschaften**, Brande, 76:526-528, 1989.
- LOPES, M.A.; MAGNAVACA, R.; GAMA, E.E.G.; PARENTONI, S.N.; SANTOS, M.X.; BAHIA FILHO, A.F.C. Melhoramiento de maiz para adaptación a los suelos de "cerrado" brasileño. In: RAMAKRISHINA, B. **Melhoramiento para tolerancia a factores adversos en el cultivo del maiz**. Quito, IICA, 1988. p.53-105.
- MURULI, B.I. & PAUSEN, G.M. Improvement of nitrogen use efficiency and its relationship to other traits in maize. **Maydica**, Bergamo, 26:63-73, 1981.
- NAIK, M.S.; SARDHAMBAL, K.V.; PRAKASH, S. Non-enzymatic photochemical reduction of nitrate in rice seedlings. **Nature**, London, 262:396-397, 1976.
- PURCINO, A.A.C.; SASAKAWA, H.; SUGIYAMA, T. Enzimas do metabolismo de carbono e nitrogênio em milho. **Relatório Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1988-1991**. Sete Lagoas, 1992. p.54-56.
- SACCOMANI, M.; CACCO, G.; FERRARI, G. Changes in the kinetic parameters of sulfate uptake in maize hybrids during the selection period of 1930 through 1975. **Maydica**, Bergamo, 29:133- 140, 1984.
- SHERRARD, O.H.; LAMBERT, R.O.; MESSMER, M.J.; BELOW, F.E.; HAGEMAN, R.H. Plant breeding for efficient use of nitrogen. IN: **Nitrogen in Crop Production**. Madison, ASA/ CSSA/ SSSA, USA, 1984.
- VASCONCELLOS, C.A.; FORTES, J.M.; STAMFORD, N.P.; FERNANDES, J.; SANTOS, Z.G.dos ; MALAVOLTA, E. Atividade da reductase do nitrato em milho (*Zea mays* L. var. "Piranão") em níveis crescentes de nitrogênio. **Revista Ceres**, Viçosa, 25(139):218-227, 1978.