

## Comportamento de Linhagens de Milho Contrastantes no Uso de Nitrogênio Cultivadas em dois Níveis de N em Substrato Hidropônico

LAURO J. M. GUIMARÃES<sup>1</sup>, IVANILDO E. MARRIEL<sup>2</sup>, SIDNEY N. PARENTONI<sup>2</sup>, CLAUDIA T. GUIMARÃES<sup>2</sup>, GLAUCO V. MIRANDA<sup>1</sup>, MARIA JOSÉ V. VASCONCELOS<sup>2</sup> e ELTO E. G GAMA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UFV/DFT, Departamento de Fitotecnia, 36570-000, Viçosa-MG, Brasil; <sup>2</sup>Embrapa Milho e Sorgo, 35700-000, Sete Lagoas-MG, Brasil; e-mail: imarriel@cnpms.embrapa.br

Palavras-chave: *Zea mays*, NUE, toxidez por amônio, parâmetros genéticos.

### Revisão Bibliográfica

A baixa produtividade média de milho no Brasil, em torno de 3.350 kg ha<sup>-1</sup> (Agrianual, 2005), é reflexo da utilização de áreas marginais de cultivo e da baixa adoção de tecnologia pelos agricultores, tanto em termos de cultivo quanto em genética dos cultivares. Ribeiro et al. (1999) citam que, no Brasil 89% dos agricultores que cultivam milho, não fazem uso de quantidades adequadas de insumos. Além disso, os cultivares utilizados não são desenvolvidos para estas condições específicas, não otimizando a interação genótipo x ambiente.

O nitrogênio (N) é o nutriente que mais onera a produção de milho, de modo que o desenvolvimento de cultivares eficientes no uso de nitrogênio é uma estratégia eficaz para reduzir custos de produção e minimizar a dependência de insumos agrícolas, possibilitando maior sustentabilidade de produção. Para a agricultura brasileira esta necessidade se agrava porque os solos são pobres em nutrientes sobretudo o nitrogênio e o fósforo (França et al., 1986). Este nutriente é principalmente adquirido pelas plantas por meio da interação das raízes com a solução do solo e, mediada por mecanismos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos, altamente relacionados (Buchanan, 2000). Muitas são as estratégias usadas para aquisição de N pelas plantas, como é evidente pela comparação entre mecanismos usados por diferentes espécies e, mesmo, entre indivíduos de uma mesma espécie, que se desenvolvem em ambientes diferentes quanto à disponibilidade e forma deste elemento (Taiz, 2004).

A aquisição de N ocorre em um contexto fisiológico e ambiental. Assim, para uma melhor compreensão dos mecanismos de assimilação de nitrogênio são necessários estudos de genes e da expressão destes, caracterização de estruturas protéicas e suas atividades enzimáticas, além de estudos de fisiologia e desenvolvimento de parte aérea e de raízes. A utilização destas informações no melhoramento possibilita o desenvolvimento de cultivares geneticamente mais eficientes e responsivos ao nitrogênio.

Segundo Baligar e Bennett (1986), as culturas aproveitam somente em torno de 50% do N aplicado, pois a adubação nitrogenada é prejudicada por vários processos de perda de N como a lixiviação de nitrato, volatilização da amônia, desnitrificação e competição com a microbiota do solo. Por isso, a investigação do desempenho de cultivares em ambientes controlados com uso solução nutritiva é de extrema importância, permitindo isolamento dos fatores que influenciam o desenvolvimento das plantas para melhor conhecimento dos mecanismos envolvidos na eficiência no uso de N (NUE- do inglês: Nitrogen Use Efficiency).

## Material e Métodos

Para investigação do comportamento das linhagens de milho previamente classificadas a campo quanto a eficiência de uso de nitrogênio (NUE: kg de grãos/kg de N aplicado), foram montados dois ensaios em casa de vegetação. Foram avaliadas 24 linhagens endogâmicas, na geração S<sub>6</sub>, pertencentes a quatro populações: CMS 28 (L1 a L6), CMS 36 (L7 a L12), CMS 59 (L13 a L18) e CMS 22 (L19 a L 24). As três primeiras linhagens de cada população são classificadas como eficientes e as outras três como ineficientes no uso de N.

Os experimentos foram instalados em blocos ao acaso, com três repetições, em casa de vegetação pertencente à Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas – MG, no dia 02 de maio de 2006, sendo colhidos no dia 23 de maio de 2006. Foram utilizadas bandejas para hidroponia com capacidade média para oito litros de solução nutritiva. Cada repetição foi constituída por 4 bandejas dispostas em linha na mesa dentro da casa de vegetação, com seis tratamentos por bandeja. A parcela experimental foi representada por 7 plântulas de cada linhagem em uma linha de furos na bandeja. Todas as bandejas foram supridas com aeração artificial.

Os ensaios foram planejados para proporcionar dois níveis contrastantes de disponibilidade de N, com os demais nutrientes em níveis idênticos. No experimento com alto N, foi utilizada solução com 60 ppm de N na forma de nitrato de amônio até o 10º dia de cultivo e na forma de cloreto de amônio do 11º ao 23º dia após o transplântio. No experimento com baixo N, foi utilizada solução com concentração de 6 ppm de N na forma de nitrato de amônio por todo o período de cultivo. As soluções nutritivas foram trocadas a cada cinco dias, sendo completado diariamente o volume das bandejas.

Foram avaliadas as características de altura de plantas, em cm, aos 23 dias após o transplântio para as bandejas (AP 23d), comprimento de raízes, em cm, aos 23 dias (Raiz cm), massa fresca e massa seca de parte aérea, em gramas, aos 23 dias (MFPA e MSPA, respectivamente) e massa fresca e massa seca de raízes, em gramas, (MFR e MSR, respectivamente), relação entre comprimento de parte aérea e raízes (PA/R cm) e relação entre massa seca de parte aérea e raízes (PA/R g), para os dois níveis de N. Para o experimento com alto N, ainda foi verificado o número de folhas queimadas aos 23 dias de cultivo (NºFQ). Tanto genótipos quanto ambientes foram analisados como fatores fixos no modelo de blocos casualizados completos, utilizando-se do Programa Genes (Cruz, 2005).

## Resultados e Discussões

Nas análises de variâncias individuais para os ambientes de baixa e alta disponibilidade de N (6 ppm e 60 ppm, respectivamente) todas as características mostraram-se significativas pelo teste F ( $p < 0,01$ ). Entretanto, para as características MFPA, PA/R cm e PA/R g, a relação entre o maior e o menor quadrado médio do resíduo superou o limite teórico de 7 vezes, não sendo adequada a análise agrupada (dados não mostrados).

As significâncias dos quadrados médios de tratamentos nas análises individuais para os dois ambientes demonstram a existência de variabilidade genética entre os genótipos testados para todas as características, indicando comportamento diferenciado entre as linhagens tanto em ambientes com baixa ou alta disponibilidade de N.

Nas Tabelas 1 e 2 são apresentados os dados de médias das características no ensaio com baixo e alto N, respectivamente. Verifica-se que os valores para os coeficientes de determinação genotípicos ( $H^2$ ) foram altos (acima de 75%) para todas as características, nos dois níveis de N, indicando que a maior parte da variabilidade observada entre os genótipos é devida a causas genéticas.

Tabela 1: Valores de médias, máximos e mínimos, diferenças (Max – Min), DMS (Diferença Mínima Significativa pelo teste Tukey a 1% de probabilidade), coeficientes de variação experimental (CV%) e coeficientes de determinação genotípicos (H<sup>2</sup>), para o experimento com baixa disponibilidade de N

BAIXO N	AP23d	Raiz	MFPA	MFR	MSPA	MSR	PA/R	PA/R
	cm	cm	g	g	g	g	cm	g
Média	36,12	64,12	23,99	17,94	2,27	1,33	0,58	1,78
Max	49,71	94,57	43,12	33,63	4,03	2,23	0,94	4,00
Min	24,29	42,57	12,98	7,71	1,36	0,56	0,33	1,11
Diferença	25,42**	52,00**	30,14**	25,92**	2,67**	1,67**	0,61**	2,89**
DMS 1%	12,54	20,99	15,13	13,67	1,45	0,82	0,28	0,74
CV%	9,57	9,03	17,39	21,01	17,53	17,03	13,40	11,45
H <sup>2</sup>	0,75	0,91	0,83	0,79	0,76	0,83	0,85	0,93

\*\* , significativo a 1% de probabilidade pelo teste Tukey.

Tabela 2: Valores de médias, máximos e mínimos, diferenças (Max – Min), DMS (Diferença Mínima Significativa pelo teste Tukey a 1% de probabilidade), coeficientes de variação experimental (CV%) e coeficientes de determinação genotípicos (H<sup>2</sup>), para o experimento com alta disponibilidade de N

ALTO N	AP23d	Raiz	MFPA	MFR	MSPA	MSR	PA/R	PA/R	Nº FQ
	cm	cm	g	g	g	g	cm	g	
Média	69,36	38,39	77,59	12,30	6,06	0,59	1,85	10,68	11,53
Max	98,83	61,14	144,32	23,95	11,90	1,43	3,40	21,88	27,00
Min	48,50	24,57	28,53	6,05	2,14	0,29	1,25	5,87	0,00
Diferença	50,3**	36,6**	115,8**	17,9**	9,76**	1,14**	2,15**	16,0**	27,0**
DMS 1%	18,18	14,00	42,67	8,99	3,25	0,57	0,88	7,19	16,68
CV%	7,23	10,06	15,17	20,16	14,76	26,74	13,10	18,57	39,90
H <sup>2</sup>	0,90	0,86	0,94	0,84	0,94	0,75	0,85	0,89	0,80

\*\* , significativo a 1% de probabilidade pelo teste Tukey.

Os ambientes proporcionaram grandes diferenças de resposta entre os genótipos sendo verificado pequeno desenvolvimento de parte aérea e grande desenvolvimento de raízes no experimento com baixa disponibilidade de N, enquanto que, no ensaio com alto nitrogênio foi verificado comportamento inverso, com grande desenvolvimento de parte aérea e pequeno crescimento de raízes (Gráficos 1 e 2).

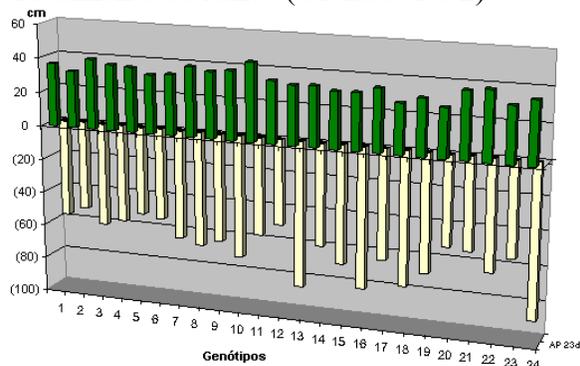


Gráfico 1: baixo N ■ AP 23d □ Raiz 23 d

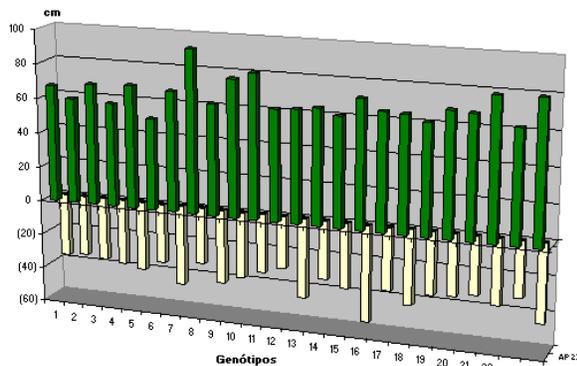


Gráfico 2: alto N ■ AP 23d □ Raiz 23 d

Gráficos 1 e 2: Desenvolvimento de parte aérea e de raízes aos 23 dias após o transplante, para os ensaios com baixo e alto nível de N, respectivamente.

Nas análises de variâncias conjuntas (Tabela 3) verifica-se que, para todas as características, os ambientes foram estatisticamente diferenciáveis ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F, indicando que as doses de 6 e 60 ppm de nitrogênio, aplicadas nos experimentos de baixo e alto N respectivamente, são adequadas para discriminar ambientes hidropônicos em casa de vegetação.

Tabela 3: Análises de variâncias conjuntas para altura de plantas e comprimento de raízes, medidas em cm, aos 23 dias (AP 23d e R 23d, respectivamente), massa fresca de raízes (MFR), e massas secas de parte aérea e de raízes (MSPA e MSR, respectivamente), em g.

FV	GL	QM				
		AP 23d	R 23d	MFR	MSPA	MSR
B/Amb	4	117,9896	10,48393	50,66515	2,38814	0,06096
Genótipos	23	198,629**	383,096**	92,5185**	9,9565**	0,3382**
Amb	1	39773,6**	23836,2**	1147,17**	517,107**	19,7210**
GxA	23	88,2112**	95,5746**	12,7041*	5,1426**	0,0668*
Resíduo	92	18,5392	24,19887	10,17781	0,47995	0,03825
Rel >/< QMR		2,10	2,25	2,31	5,04	2,06
Média		52,74	51,26	15,12	4,17	0,96
CV %		8,16	9,60	21,10	16,62	20,33
H <sup>2</sup>		90,6665	93,6833	88,9992	95,1795	88,6913

\*\* e \*, significativos a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

Para os genótipos, verifica-se que todas as características apresentaram diferenças significativas a 1% pelo teste F, demonstrando haver diferenças no desenvolvimento vegetativo entre as linhagens, mesmo nas análises agrupadas. Entretanto, as interações entre genótipos e níveis de N aplicados também apresentaram-se significativas, a 1% de probabilidade para as características AP aos 23 dias, crescimento de raízes aos 23 dias e para MSPA, e a 5% de probabilidade para MFR e MSR, indicando que existem genótipos que apresentam respostas diferenciadas quando submetidos aos diferentes níveis de nitrogênio testados, ou seja, a classificação relativa dos genótipos, para qualquer característica, é alterada dependendo da disponibilidade de N.

Apesar das significâncias para todas as características pelo teste Tukey ( $p < 0,01$ ), nos dois níveis de N (Tabelas 1 e 2), não foram encontradas diferenças para os contrastes realizados pelo teste de Scheffé a 5% de probabilidade para os grupos de genótipos eficientes contra os genótipos ineficientes [ $C_1 = (L_1 + L_2 + L_3 + L_7 + L_8 + L_9 + L_{13} + L_{14} + L_{15} + L_{19} + L_{20} + L_{21} / 12) - (L_4 + L_5 + L_6 + L_{10} + L_{11} + L_{12} + L_{16} + L_{17} + L_{18} + L_{22} + L_{23} + L_{24} / 12)$ ], tanto no experimento com baixo nível de N quanto no ensaio com alto N. Estes resultados indicam que as respostas de desenvolvimento e acúmulo de massa fresca e massa seca, tanto de parte aérea como de raízes, não são diretamente relacionadas à eficiência de uso de nitrogênio a nível de campo. Desta forma, verifica-se que existem genótipos eficientes na absorção e assimilação de N para desenvolvimento vegetativo mas ineficientes na translocação de compostos nitrogenados para órgãos reprodutivos, acarretando baixa produtividade de grãos.

Comparando linhagens da população CMS 28 com CMS 22, a característica N°FQ apresentou significância a 5% pelo teste de Scheffé, indicando que as linhagens da população CMS 28 apresentam maior queima de folhas em solução nutritiva com alto nível de nitrogênio na forma de amônio, o que pode refletir em uma menor eficiência de utilização de N amoniacal, pois estas apresentam sintomas de toxidez por amônio mais severos que linhagens da população CMS 22. Em trabalho prévio, linhagens ineficientes no uso de N apresentaram

sintomas de toxidez mais severos e acúmulo de amônio na parte aérea (Utida et al., 2004), indicando a existência de um gargalo na rota de assimilação de amônio nestes genótipos, possivelmente pela menor eficiência e ou atividade das enzimas GS e/ou GOGAT, que atuam em sintonia para assimilação primária de amônia nas células.

### **Conclusões**

As 24 linhagens testadas diferem quanto ao desenvolvimento de parte aérea e raízes, em solução nutritiva, tanto em alto como em baixo nível de N.

As concentrações de 6 e 60 ppm de N diferenciam significativamente os ambientes hidropônicos e promovem respostas diferenciadas entre os genótipos, com interação significativa entre os fatores para as características avaliadas.

O contraste entre grupos de genótipos para número de folhas queimadas em alto N permitiu a distinção entre populações tolerantes e não tolerantes a altas concentrações de amônio.

São necessários estudos adicionais de características fisiológicas e de conteúdo de N total, nitrato e amônio nos tecidos para melhor caracterização dos genótipos e entendimento de mecanismos envolvidos no uso de N.

### **Literatura Citada**

- AGRIANUAL 2005. Anuário da agricultura brasileira. FNP Consultorias e AgroInformativos. Itaim, São Paulo – SP. P 373 – 394.
- BALIGAR, V.C.; BENNETT, O.L. NPK-fertilizer efficiency - a situation analysis for the tropics. Fertilizer Research, Dordrecht, v.10, p.147-164, 1986.
- BUCHANAN; GRUÍSSEM e JONES - Ed. Biochemistry e molecular biology of plants. 2000. 1367p.
- CRUZ, C. D. Programa para análises de dados moleculares e quantitativos – GQMOL. Viçosa: UFV, 2005. (Software).
- FRANÇA, G.E. de; BAHIA FILHO, A.F.C.; VASCONCELOS, C.A.; SANTOS, H.L. Adubação no Estado de Minas Gerais. In: SANTANA, M.B.M. (Coord.). Adubação nitrogenada no Brasil. Ilhéus: CEPLAC, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p.107-124. 1986.
- RIBEIRO, P. H. E.; RAMALHO, M. P. R.; FERREIRA, D. F., Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho em diferentes condições ambientais do estado de Minas Gerais. In: Reunión Latinoamericana Del Maíz, 18. Embrapa-CNPMS/CIMMYT, 1999. 684 p.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 3ª ed. Traduzido. 2004. 719p.
- UTIDA, M.K.; MONTEIRO, G.G.; BORGES, M.T.; ALVES, V.M.C.; DURAES, F.O.M.; SCOTTI, M.R.; SA, N.M.H.; MARRIEL, I.E. Associação entre assimilação de amônio e eficiência de uso de nitrogênio em genótipos de milho contrastantes, cultivados em substrato hidropônico. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO,25.; SIMPOSIO BRASILEIRO SOBRE A LAGARTA-DO-CARTUCHO, SPODOPTERA FRUGIPERDA,1., 2004, Cuiabá, MT. Da agricultura familiar ao agronegócio: Tecnologia, competitividade e sustentabilidade: [resumos expandidos]. Sete Lagoas: ABMS/Embrapa Milho e Sorgo/Empaer, 2004.