

ATIVIDADE ENZIMÁTICA NA CULTURA DO MILHO (*Zea mays* L.) EM FUNÇÃO DO MOLIBDÊNIO E DE ÉPOCAS DE ADUBAÇÃO NITROGENADA

MANOEL MOTA SANTOS¹, RODRIGO RIBEIRO FIDELIS¹, FERNANDO LUIZ FINGER², GLAUCO VIEIRA MIRANDA², IVO RIBEIRO SILVA² e JOÃO CARLOS CARDOSO GALVÃO²

¹Professor Adjunto, UFT, Gurupi, TO, Brasil, santosmm@uft.edu.br, fidelisrr@uft.edu.br

²Professor Adjunto, UFV, Viçosa, MG, Brasil, ffinger@ufv.br, glaucomiranda@ufv.br, ivosilva@ufv.br, jgalvao@ufv.br

Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.11, n.2, p. 145-155, 2012

RESUMO - Aplicações de nitrogênio e de molibdênio em diferentes épocas podem interferir na atividade enzimática na cultura do milho (*Zea mays* L.). O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da adubação nitrogenada e molibídica sobre a atividade da enzima nitrato redutase, teor de nitrogênio e produtividade de grãos em dois cultivares de milho. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, no esquema fatorial 3 x 2 x 2 + 2, com quatro repetições. Foram avaliadas: atividade enzimática em função das épocas de coleta; teor de nitrogênio foliar; e produtividade de grãos em ambos os cultivares. A época de aplicação do nitrogênio interfere na atividade enzimática independente da adubação com molibdênio. A maior produtividade de grãos e atividade enzimática foi obtida com a aplicação de nitrogênio na época em que o milho estava com quatro folhas expandidas. Os ciclos vegetativos dos cultivares de milho podem interferir na resposta da atividade enzimática.

Palavras-chave: ciclo vegetativo, nitrogênio, produtividade, redutase de nitrato.

ENZYMATIC ACTIVITY IN MAIZE (*Zea mays* L.) UNDER DIFERENTS TIMES OF NITROGEN FERTILIZATION AND MOLYBDENUM APPLICATION

ABSTRACT - Molybdenum applications and nitrogen fertilization at different times may interfere with enzymatic activity in maize (*Zea mays* L.) plants. The aim of this work was evaluate the effect of nitrogen fertilization and molybdenum application on the activity of the enzyme nitrate reductase (NR), nitrogen content and grain yield in two maize cultivars. A randomized blocks experimental design was used, in a 3 x 2 x 2 + 2 factorial scheme with four replications and 50.000 plants ha⁻¹. The following parameters were evaluated: enzymatic activity depending on the harvest season, leaf nitrogen content and grain yield. The time of nitrogen application affected enzymatic activity independent of fertilization with molybdenum. The highest grain yield and increased enzymatic activity were obtained by applying nitrogen at the four expanded leaves stage. The growing seasons of corn cultivars may affect the enzyme activity.

Key words: vegetative cycle, nitrogen, yield, nitrate reductase.

O nitrogênio (N) representa papel fundamental por sua atuação decisiva no metabolismo das plantas, notadamente na síntese protéica. Considerado um dos nutrientes mais importantes, tanto no incremento da produção de grãos, como na elevação do teor protéico, é também o elemento que mais onera os custos de produção da cultura do milho (*Zea mays* L.). Os gastos envolvendo adubações nitrogenadas e potássica variam de 20 a 28 %, segundo Pavinato et al. (2008), sendo interessante a busca de cultivares responsivos à aplicação de nitrogênio.

A redutase do nitrato (NR) é a enzima catalisadora da conversão do nitrogênio inorgânico na forma de nitrato (NO_3^-) para a forma de nitrito (NO_2^-). O nitrito formado é exportado para o cloroplasto e, posteriormente, transformado em amônio (NH_4^+) pela ação do nitrito redutase. A rota de assimilação do nitrato em plantas superiores envolve dois estágios sequenciais: a conversão do nitrato à amônia, mediada pelo nitrato redutase (RN), a qual reduz nitrato a nitrito, e pela nitrito redutase, que converte nitrito à amônia; em seguida, a amônia é assimilada nos aminoácidos glutamina e glutamato, os quais servem para translocar nitrogênio orgânico das fontes para os drenos. As principais enzimas envolvidas são a glutamina sintetase (GS) e a glutamato sintase (GOGAT) (Taiz & Zeiger, 2008).

A GS ocorre em folhas de milho em duas isoformas: uma citoplásmica (GS1) e outra cloroplástica (GS2) (Lea & Azevedo, 2007). Aparentemente, o papel da GS2 é assimilar a amônia gerada a partir da redução do nitrato ou liberada durante o processo de fotorrespiração da glicina, (White & Brown, 2010); enquanto altos níveis de atividade de GS1 são observados em resposta ao acúmulo de amônia devido ao processo de degradação de proteínas em plantas senescentes. Duas formas de GOGAT são conhecidas

em função dos seus doadores de elétrons: uma dependente de NAD(P)H (NAD(P)H-GOGAT) e outra dependente de ferredoxina (Fd-GOGAT). Em tecidos fotossintéticos, esta última contribui com aproximadamente 96 % da atividade total da GOGAT, sendo a atividade restante derivada da NADH-GOGAT (Taiz & Zeiger, 2008).

O molibdênio (Mo) exerce papel indispensável na assimilação do nitrato absorvido pelas plantas. Além do mais, interfere diretamente no crescimento e no desenvolvimento do milho e, conseqüentemente, na produção de grãos, por meio do metabolismo do nitrogênio, visto que o micronutriente é componente da enzima redutase do nitrato (Taiz & Zeiger, 2008). Portanto, qualquer deficiência deste elemento pode comprometer o metabolismo do nitrogênio, diminuindo a produtividade das culturas. De acordo com Teixeira (2006), a aplicação do molibdênio na cultura do milho não proporciona acréscimos ao crescimento da planta ou à produção de grãos. Entretanto, Coelho (1997), Ferreira (2001) e Silva et al. (2011) obtiveram incrementos de produtividade do milho com diferentes doses de adubação molíbdica, ocorrendo variação entre anos, podendo ser influenciada provavelmente pela variação de chuvas e por outros fatores ambientais, como temperatura e luminosidade.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do molibdênio e da época de adubação nitrogenada sobre a atividade das enzimas nitrato redutase (ANR) em cultivares de milho.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no ano agrícola 2006/07, na Estação Experimental de Coimbra, MG, Brasil, localizada a 20°50'30" Sul e 42°48'30" Oeste, com altitude de 715 m, em solo classificado como

Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico, fase terraço (Santos et al., 2006).

Na camada de zero a 10 cm, o solo apresentou as seguintes características: 70% de argila; pH em água de 5,5; 19,4 mg dm⁻³ de P (Mehlich 1); 135,0 mg dm⁻³ de K; 0,1 cmol_c dm⁻³ de Al; 1,6 cmol_c dm⁻³ de Ca; 0,7 cmol_c dm⁻³ de Mg; e 2,1 mg dm⁻³ de MO. Os dados de precipitação e de temperatura, em decêndios, medidos na estação experimental de Coimbra estão representados na Figura 1.

tiram de: T1 - aplicação total de nitrogênio 15 dias antes do plantio, sem molibdênio; T2 - aplicação total de nitrogênio no plantio, sem molibdênio; T3 - aplicação total de nitrogênio na época em que o milho se encontrava com quatro folhas completamente desenvolvidas, sem molibdênio; T4 - aplicação total de nitrogênio 15 dias antes do plantio, com molibdênio; T5 - aplicação total de nitrogênio no plantio, com molibdênio; T6 - aplicação total de nitrogênio na época em que o milho se encontrava com quatro folhas

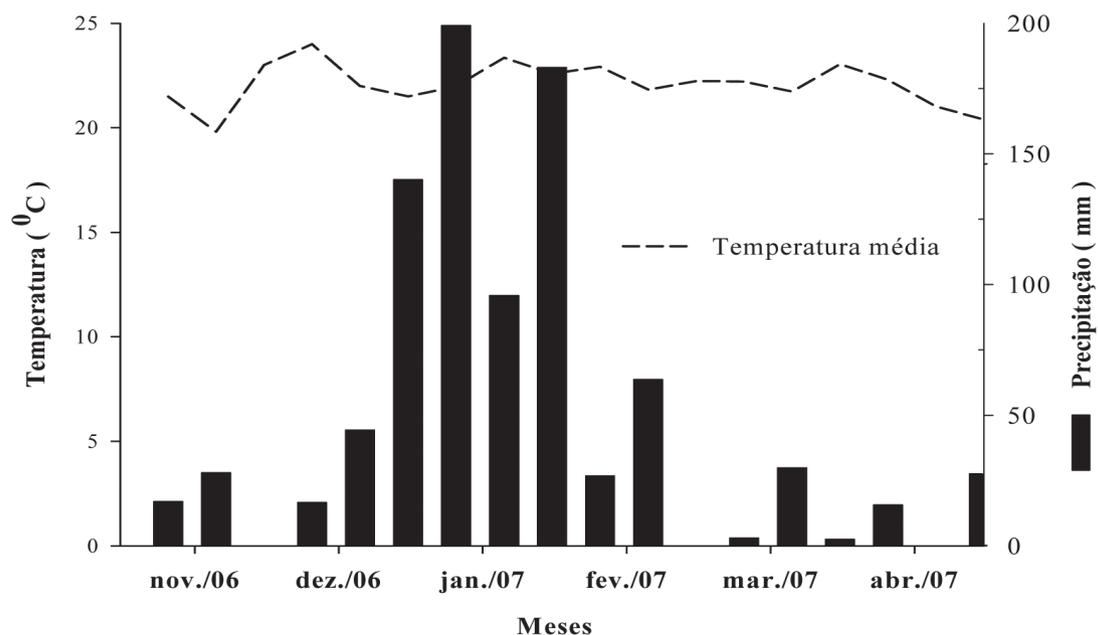


FIGURA 1. Precipitação (mm) e temperatura média em decêndio (°C) observadas durante a condução do experimento em 2006/07. Coimbra, MG.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições, no esquema fatorial 3 x 2 x 2 + 2; três épocas de aplicação de N; na ausência e na presença de adubação com molibdênio (Mo); dois cultivares de milho e uma testemunha sem fertilização para cada cultivar. Os tratamentos consis-

completamente desenvolvidas, com molibdênio e T7 - testemunha sem nitrogênio e sem aplicação de Mo, para cada cultivar.

A semeadura foi realizada em novembro (30/11/2006) sobre palhada de aveia em sistema de plantio direto, na densidade de 5 sementes m⁻². As

parcelas experimentais foram compostas por oito linhas de 5,0 m de comprimento, com espaçamento de 0,50 m entre as linhas de plantio. A área útil de cada parcela foi de 12 m² (6 linhas centrais com 4,0 m de comprimento).

Na adubação de semeadura, utilizaram-se 380 kg ha⁻¹ do formulado 08-28-16 para as parcelas que receberam nitrogênio. Para a dose zero de nitrogênio, a adubação foi realizada com 106 kg de P₂O₅, na forma de superfosfato simples, e 60 kg de K₂O, como cloreto de potássio, na parcela.

As adubações de cobertura e de plantio com nitrogênio foram realizadas com ureia, utilizando na cobertura 150 kg ha⁻¹ para ambos os cultivares de milho (AG 9010 e P 3041), realizando irrigação logo após a aplicação da ureia. O Mo foi aplicado na fórmula de molibdato de sódio via foliar (90 g ha⁻¹), aos 25 dias após a emergência (DAE), de acordo com Pereira (1997), nos respectivos tratamentos.

As plantas daninhas foram controladas pela aplicação da mistura atrazine + nicosulfuron (1,5 kg ha⁻¹ + 12 g ha⁻¹ do i.a., respectivamente). Não foi verificado o aparecimento de insetos-praga; portanto, não realizou-se o controle dos mesmos.

Para a determinação da RN, seguiram-se as recomendações de Coelho (1997). Foram realizadas amostragens aos 45, 60, 75 e 90 dias após a emergência das plântulas, retirando-se quatro folhas por parcela completamente desenvolvidas a partir do ápice. Em seguida, foram acondicionadas em sacos plásticos, os quais foram colocados em caixa de isopor com gelo e, posteriormente, transportados para o laboratório. As amostragens foram efetuadas sempre às 14 h, pois este foi o horário identificado como o de maior atividade da redutase de nitrato em milho, de acordo com Pereira (1997).

No laboratório, por meio de um furador de ro-lhas, retiraram-se 40 discos de 8 mm de diâmetro, por

parcela, sendo cinco discos por folha, os quais foram pesados para obtenção da matéria fresca. Posteriormente, os discos foram colocados no meio de incubação com a seguinte composição: 5 ml de tampão fosfato (Na₂HPO₄/NaH₂PO₄) 0,2 mol L⁻¹, pH 7,5; 2,5 ml de propanol a 8 %; 1 ml de água destilada e 1,5 ml de KNO₃ na concentração de 75 mmol L⁻¹; e duas gotas de Triton X100. Em seguida, as amostras foram submetidas por duas vezes a um ambiente com vácuo durante 30 s.

Posteriormente, colocou-se o recipiente com as amostras em banho-maria a 30 °C e, após 40 min, retirou-se 1 ml de meio de incubação, utilizando-se uma micropipeta automática, transferindo-o para um tubo de ensaio contendo 1 ml de sulfanilamida na concentração de 1% em HCl 3 mol l⁻¹ e 1 ml de água destilada. Após este procedimento, em todas as parcelas, acrescentou-se 1 ml de N-1-naftileno diamina 0,02% em cada tubo de ensaio, com posterior agitação em vórtex por, aproximadamente, 20 s. Após a agitação dos tubos de ensaio, as amostras ficaram em repouso durante 1 h, para haver a estabilização da reação de 1 ml de N-1-naftileno diamina 0,02%. Com o nitrito formado a partir da redução do nitrato, fez-se a leitura em espectrofotômetro a 540 nm.

A atividade da enzima foi determinada pela quantidade de nitrito (NO₂⁻) produzida, comparando-se os valores obtidos com uma curva padrão para esse íon, previamente estabelecidos e convertidos em atividade da redutase do nitrato em micromoles de nitrito por hora por grama de matéria fresca (μmoles de NO₂⁻ H⁻¹ g⁻¹ MF).

Além das leituras enzimáticas, também foram realizadas avaliações para as características teor de nitrogênio, aos 45, 60, 75 e 90 dias após a emergência das plântulas, seguindo metodologia de Malavolta et al. (1997) e produtividade dos cultivares de milho

utilizando a massa total de grãos da parcela (12 m²) e extrapolando os resultados para kg ha⁻¹, corrigindo a umidade para 13% (base úmida). Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância para as características teor de nitrogênio e produtividade e regressão para as épocas de aplicação do nitrogênio em função dos cultivares e do ajustamento da curva de regressão, utilizando o sistema operacional SAEG 9.1 (Ribeiro Júnior, 2007). Para a comparação das médias, foi usado o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Foram verificados efeitos quadráticos e cúbicos para a atividade da redutase do nitrato - ARN

em função da época de avaliação (Tabela 1 e Figuras 2 e 3). Observou-se comportamento semelhante para todos os tratamentos, dentro de cada cultivar (AG 9010 representado pelas Figuras 2A e 2B e pelas Figuras 3A e 3B). Foi observada menor ARN no tratamento testemunha e maiores atividades da ARN nos tratamentos que receberam N em cobertura (T3 e T6), seguidos da aplicação de N no plantio (T2 e T5), independente da aplicação de Mo, ou seja, a época de aplicação interfere nessa característica. Além disso, foi verificada redução desta atividade aos 60 DAE em ambos os tratamentos, possivelmente devido à relação fonte-dreno ocorrida na época do florescimento, que coincidiu com a avaliação.

TABELA 1. Equações ajustadas da atividade da Redutase do Nitrato em dois cultivares de milho em função de épocas de adubação nitrogenada e presença ou não de molibdênio.

| Tratamentos* | AG 9010 | |
|--------------|---|------------|
| Testemunha | $\hat{y} = \text{media} = 1,16$ | $R^2 = 79$ |
| T1 | $Y = 4,3247 - 0,0407^{\circ}x$ | $R^2 = 99$ |
| T2 | $Y = 7,2690 - 0,0771^{\circ}x$ | $R^2 = 93$ |
| T3 | $Y = 7,0610 - 0,0772^{\circ}x$ | $R^2 = 86$ |
| T4 | $Y = 3,7460 - 0,0322^{\circ}x$ | $R^2 = 87$ |
| T5 | $Y = 5,7190 - 0,0601^{\circ}x$ | $R^2 = 89$ |
| T6 | $Y = 4,0620 - 0,0377^{**}x$ | $R^2 = 98$ |
| | P 3041 | |
| Testemunha | $Y = -0,0880 + 0,0096nsx$ | $R^2 = 67$ |
| T1 | $Y = -9,9190 + 0,3428^{\circ}x - 0,0025x^2$ | $R^2 = 99$ |
| T2 | $Y = 0,9410 - 0,0039nsx$ | $R^2 = 84$ |
| T3 | $Y = -9,5990 + 0,3215^{**}x - 0,0023x^2$ | $R^2 = 99$ |
| T4 | $Y = -6,6825 + 0,2352^{**}x - 0,0017x^2$ | $R^2 = 99$ |
| T5 | $Y = -1,6925 + 0,0588^{\circ}x - 0,0004x^2$ | $R^2 = 99$ |
| T6 | $Y = -1,22170 + 0,0574^{ns}x - 0,0004x^2$ | $R^2 = 80$ |

*T: N 15DAP -Mo, T2 : N PL - Mo, T3: N 4^aF - Mo, T4: N 15DAP +Mo, T5: N PL + Mo e T6: N 4^aF + Mo e Testemunha: zero de N e Mo.

O molibdênio pode influenciar como catalisador na reação de redução do NO_3^- , para NO_2^- , pela enzima redutase do nitrito, além de influenciar na ativação dessa enzima, sendo observados alguns efeitos positivos da adubação molíbdica na ARN em plantas. A baixa atividade dessa enzima, neste trabalho, pode ser influenciada pela baixa dose utilizada (90 g ha^{-1}) ou também pelo excesso de umidade do solo, devido a elevadas precipitações ocorridas durante a condu-

ção do experimento (Figura 1), interferindo no processo de nitrificação do N e até mesmo potencializando perdas por lixiviação. Além do mais, a aplicação de N sobre a palhada de aveia preta, no sistema de plantio direto, pode influenciar na elevação de perdas por volatilização do N, conforme observado por Cantarella (2007). De acordo com Taiz & Zeiger (2008) e Epstein & Bloom (2006), a redutase do nitrito é induzida por NO_3^- e inibida por NH_4^+ .

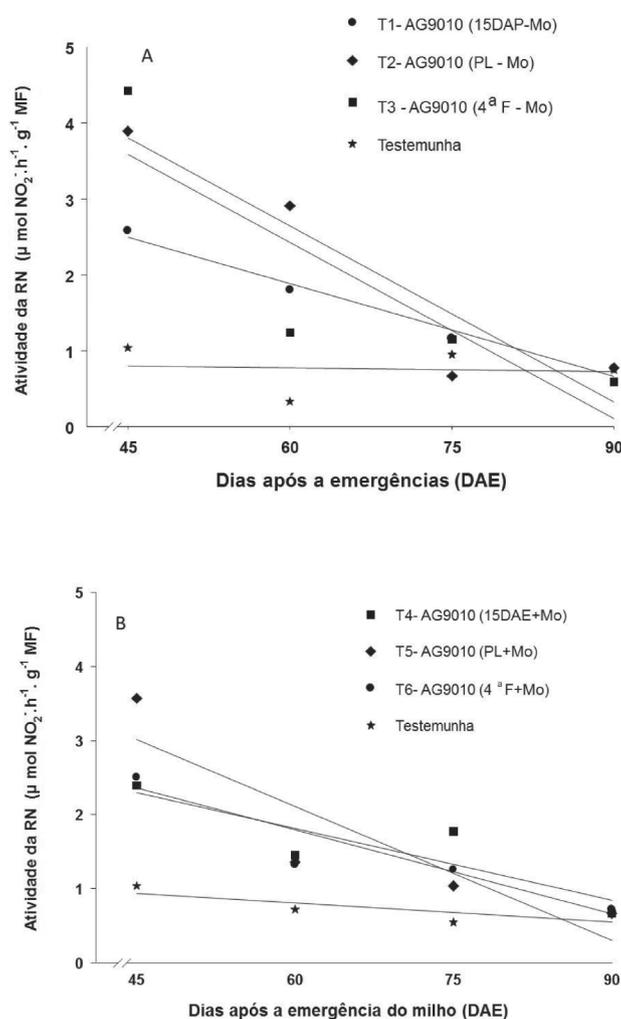


FIGURA 2. Atividade da enzima redutase nitrato (ARN), do cultivar de milho (AG 9010), em função da adubação nitrogenada e molíbdica. Coimbra, MG. Figura A - Adubação nitrogenada, sem aplicação de molibdênio. Figura B - Adubação nitrogenada, com aplicação de molibdênio. Média real dos dados.

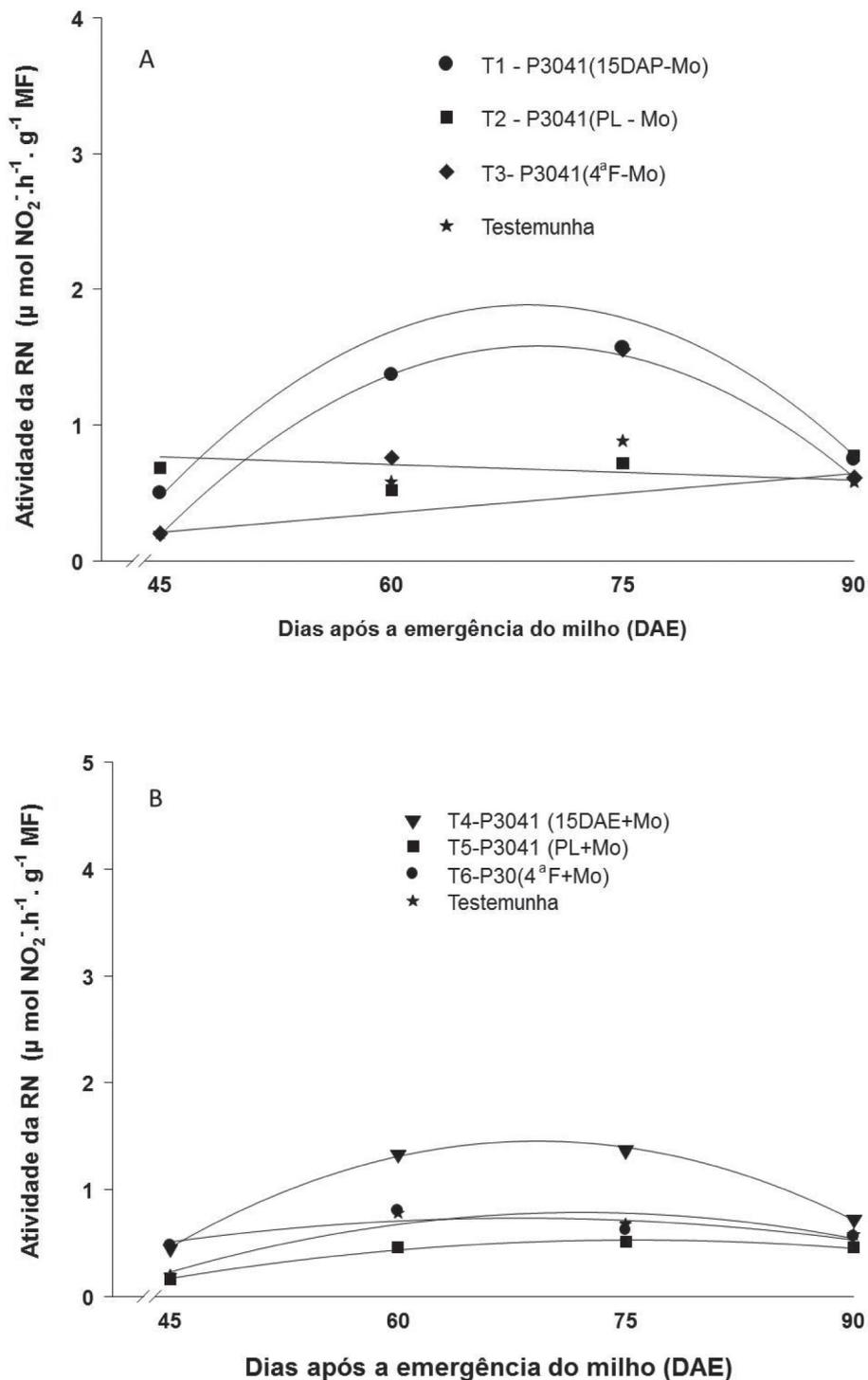


FIGURA 3. Atividade da enzima redutase nitrato (ARN), do cultivar de milho (P 3041), em função da adubação nitrogenada e molíbdica. Coimbra, MG. Figura A - Adubação nitrogenada, sem aplicação de molibdênio. Figura B - Adubação nitrogenada, com aplicação de molibdênio. Média real dos dados.

Outra explicação para a ausência de resposta da aplicação de Mo foi devido, provavelmente, ao suprimento desse micronutriente pelas sementes ser suficiente para ativar o metabolismo da planta, atuando como co-fator na atividade do nitrato redutase, porém, não interferindo na produtividade. Esses resultados são semelhantes aos encontrados pela grande maioria de trabalhos na literatura. No entanto, Coelho (1997) e Ferreira (2001), em Viçosa, MG, Brasil, obtiveram incrementos de produtividade do milho com a adubação molíbdica quando utilizaram doses crescentes de Mo e Lana et al. (2007), em Uberlândia, MG, Brasil, quando utilizaram mistura de Mo e Co associada a adubação nitrogenada utilizada de acordo com recomendações agrônômicas.

Os valores da ARN variaram de 0,20 a 4,42 ($\mu\text{moles de NO}_2^- \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$) entre os tratamentos. As menores ARNs foram obtidas nos tratamentos testemunhas, indicando que a expressão da ARN pode ser influenciada pela absorção de nitrogênio e do molibdênio. Apesar da existência da atividade enzimática, esses valores são considerados baixos, sendo influenciados possivelmente pelo excesso de chuvas (Figura 1), como também pela baixa quantidade de Mo aplicada na planta.

Pereira (1997) também encontrou baixas respostas da ARN, associando este efeito aos fatores edafoclimáticos, principalmente o excesso de chuvas ocorrido durante a condução do experimento. A nitrato redutase é uma enzima induzida pelo seu substrato. A expressão dessa enzima, mesmo em condições de baixas concentrações de nitrogênio, é devida ao fato de a mesma se caracterizar como carregadora constitutiva de alta afinidade (Lea & Azevedo, 2007).

Para a resposta dos cultivares de milho à ARN, observou-se que ambos tiveram comportamentos di-

ferentes quanto à utilização do N no início da avaliação. Para o cultivar super precoce (AG 9010), Figuras 2A e 2B, aos 45 DAE, a ARN já se encontrava elevada, enquanto que, para o cultivar P 3041 (precoce), Figura 3, a atividade estava baixa com elevação posterior, evidenciando que houve efeito de respostas entre os cultivares. Machado et al. (2001), trabalhando com dois cultivares de milho dito moderno e antigo, objetivando analisar a eficiência de absorção de nitrogênio (alto e baixo conteúdo, 100 e 10 kg ha⁻¹, respectivamente), também não encontraram efeito na ARN, quando avaliado em campo experimental.

Trabalhos desenvolvidos por Martin et al. (2005) mostraram efeito da absorção de nutrientes em milhos favorecido pelo maior período vegetativo na cultura do milho após o enchimento do grão, corroborando com os resultados observados neste trabalho. De acordo com a literatura, o aumento do período vegetativo é influenciado por genes que estendem o Stay-green (Martin et al., 2005). Essa característica é uma prática que vem ganhando espaço nos programas de melhoramento. O aumento do período vegetativo favorece a atuação da atividade enzimática, entre elas o nitrato redutase, conforme mostrado após o florescimento 60 DAE neste trabalho.

A análise de N foliar, realizada nas diferentes épocas, evidenciou que somente aos 60 e 75 DAE é que ocorreu uma diferenciação no teor de N foliar (Tabela 2). Esta evidência é devida à forte relação fonte-dreno existente entre a alocação do particionamento das reservas foliares para o grão. No entanto, o teor de N é considerado baixo, pois, de acordo com Ferreira et al. (2001), o teor de N foliar encontrado aos 45 DAE necessário para garantir 90 % da produção máxima de grãos, é 2,73 mg dm⁻³. Os autores atribuíram esta variação do nível crítico de

N às diferenças ambientais, as quais influenciam a absorção, a translocação e o acúmulo de nutrientes, a síntese de fotoassimilados e a produção de grãos, fato que pode ter ocorrido neste experimento.

folhas e em 6% comparado com a aplicação de N no plantio. Resultados estes que corroboram com os encontrados por Silva et al. (2005) e Santos et al. (2010).

TABELA 2. Teor de N (mg dm^{-3}), avaliado aos 45, 60, 75 e 90 DAE, e produtividade (kg ha^{-1}), em função das épocas de aplicações de nitrogênio, na média de dois cultivares de milho na safra 2006/07. Coimbra, MG.

| Épocas* | 45 | 60 | 75 | 90 | Produtividade |
|---------|---------------|---------|---------|--------|---------------------------------|
| |DAE..... | | | | kg ha^{-1} |
| 1 | 2,08 a | 1,47 a | 1,27 a | 0,89 a | 3297 b |
| 2 | 1,98 a | 1,08 ab | 1,19 ab | 0,81 a | 3503 ab |
| 3 | 1,89 a | 0,96 b | 0,82 b | 0,75 a | 4486 a |
| CV (%) | 14,18 | 50,77 | 45,15 | 28,33 | 31,14 |

Médias seguidas por mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente a $p < 0,05$ pelo teste de Tukey.

*1- Aplicação de N 15 dias antes do plantio; 2 - Aplicação de N no plantio; e 3 - cobertura com N na quarta folha.

Nota-se que os menores valores no teor de nitrogênio foram obtidos quando o N foi aplicado em cobertura. Apesar de o N ser aplicado na época que coincide com a usual entre produtores, houve baixo aproveitamento do N pela cultura do milho, possivelmente devido às perdas do N por imobilização, lixiviação e volatilização. Além do mais, essa época de aplicação coincidiu com elevada precipitação e dias nublados, reduzindo, com isso, a eficiência de absorção dos nutrientes pela cultura, concordando com Taiz & Zeiger (2008) e Epstein & Bloom (2006).

Houve resposta para a produtividade de grãos na adubação nitrogenada aplicada no estágio de quatro folhas do milho, com aproximadamente 1.000 kg ha^{-1} a mais que nas demais épocas. Os resultados não diferiram significativamente da aplicação de N no plantio (Tabela 2). A aplicação de N na pré-semeadura reduziu o peso de grãos em 17% em relação à adubação no estágio de quatro

Conclusões

A época de aplicação do nitrogênio interfere na atividade enzimática independente da adubação com molibdênio.

A maior produtividade de grãos e a maior atividade enzimática foram obtidas com a aplicação de nitrogênio na época em que o milho estava com quatro folhas completamente expandidas.

Os ciclos vegetativos dos cultivares de milho interferem na resposta da atividade enzimática.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a concessão da bolsa, e ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), o espaço cedido para a realização do projeto.

Referências

- CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F.; ÁLVARES, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Org.). **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. v. 1, p. 375-470.
- COELHO, F. C. **Efeito do nitrogênio e do Molibdênio sobre as culturas do milho e do feijão em monocultivos e em consórcio**. 1997. 132 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. Trad. Maria Edna Tenório Nunes. Londrina: Planta, 2006. 401p.
- FERREIRA, A. C. de B.; ARAÚJO, G. A. A.; PEREIRA, P. R. G.; CARDOSO, A. A. Características Agronômicas e nutricionais do milho adubado com nitrogênio, molibdênio e zinco. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 1, p. 131-138, 2001.
- LANA, Â. M. Q.; LANA, R. M. Q.; FRIGONI, A. S.; TREVISAN, L. R. Doses, fontes e épocas de aplicação de micronutrientes na cultura do milho. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 19, p. 76-81, 2007.
- LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. Nitrogen use efficiency. 2. Amino acid metabolism. **Annals of Applied Biology**, Malden, v. 151, n. 3, p. 269-275, 2007.
- MACHADO, A. T.; SODEK, L.; FERNANDES, M. S. N-partitioning, nitrate reductase and glutamine synthetase activities in two contrasting varieties of maize. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 36, n. 2, p. 249-256, 2001.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. Metodologia para análise de elementos em material vegetal. In: MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. (Ed.). **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. p. 231-308.
- MARTIN, A.; BELASTEGUI-MACADAM, X.; QUILLERÉ, I.; FLORIOT, M.; VALADIER, M. H.; POMMEL, B. ANDRIEU, B.; DONNISON, I.; HIREL, B. Nitrogen management and senescence in two maize hybrids differing in the persistence of leaf greenness: agronomic, physiological and molecular aspects. **New Phytologist**, Lancaster, v. 167, n. 2, p. 483-492, 2005.
- PAVINATO, P. S.; CERETA, C. A.; GIROTTO, E.; MOREIRA, I. C. L. Nitrogênio e potássio em milho irrigado: análise técnica e econômica da fertilização. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 358-364, 2008.
- PEREIRA, S. L. **Efeito da adubação nitrogenada e molíbdica sobre a produtividade, teor de nitrogênio, atividade da redutase de nitrato e outras características da cultura do milho**. 1997. 89 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- RIBEIRO JÚNIOR, J. I. **Análises estatísticas no SAEG**. Viçosa, MG: UFV, 2007. 301 p.
- SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; OLIVEIRA, J. B. de; COELHO, M. R.; LUMBRERAS, J. F.; CUNHA, T. J. F. (Ed.). **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306 p.
- SANTOS, M. M.; GALVÃO, J. C. C.; SILVA, I. R. MIRANDA, G. V.; FINGER, L. F. Épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura do milho em plantio direto, e alocação do Nitrogênio (¹⁵N) na planta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 34, p. 1185-1194, 2010.
- SILVA, S. M.; OLIVEIRA, L. J.; FARIA, F. P. REIS, E. F.; CARNEIRO, M. A. C.; SILVA, S. M. Atividade

da enzima nitrato redutase em milho cultivado sob diferentes níveis de adubação nitrogenada e potássica.

Ciência Rural, Santa Maria, v. 41, n. 11, p. 1931-1937, 2011.

SILVA, E. C.; FERREIRA, S. M.; SILVA, G. P.; ASSIS, R. L.; GUIMARÃES, G. L. Épocas e formas de aplicação de nitrogênio no milho sob plantio direto em solo de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 29, p. 725-733, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 819 p.

TEIXEIRA, A. R. **Doses de molibdênio nas culturas do milho comum e milho-pipoca**. 2006. 37 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

WHITE, P. J.; BROWN, P. H. Plant nutrition for sustainable development and global health. **Annals of Botany**, Exeter, v. 105, n. 7, p. 1073-1080, 2010.