

## Avaliação bioquímica de plantas de milho pulverizadas com uréia isolada e em associação com aminoácidos

Maria da Graça de Souza Lima<sup>1\*</sup>, Cristina Rodrigues Mendes<sup>1</sup>, Ronaldo do Nascimento<sup>2</sup>, Nei Fernandes Lopes<sup>2</sup>, Maria Angélica Petrucci Carvalho<sup>1</sup>

### RESUMO

O aproveitamento do nitrogênio (N) usado na adubação é inferior a 50%, devido às perdas de N por lixiviação, desnitrificação e volatilização da uréia. Uma alternativa para complementar o suprimento de N seria a adubação foliar, empregando-se aminoácidos como fontes orgânicas de N. O trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da aplicação foliar de uréia, isolada e associada a diferentes aminoácidos, através da avaliação bioquímica em plantas jovens de milho. Sementes de milho BRS 3060 foram semeadas em casa de vegetação. Aos cinco dias após a emergência (DAE) foi feita pulverização com os tratamentos uréia 1%, uréia 1% + 1,2 mgN mL<sup>-1</sup> de asparagina, alantoína ou glutamina e controle sem nitrogênio e sem aminoácidos (H<sub>2</sub>O). A aplicação das diferentes fontes repetiu-se a cada cinco dias. Aos 30 DAE foram realizadas as análises bioquímicas. A relação C:N foi maior no controle sem nitrogênio, tanto na parte aérea quanto nas raízes, devido ao maior teor de proteínas. As raízes apresentaram maior atividade com uréia associada aos aminoácidos glutamina e asparagina. As plantas de milho apresentaram maior concentração de pigmentos nos tratamentos com uréia isolada e associada à alantoína. O teor de proteína foi significativamente superior nas folhas comparando-as às raízes. Todas as fontes foram efetivas na produção de proteínas. Conclui-se que o tratamento com uréia isolada e associada aos diferentes aminoácidos, em plantas jovens de milho, torna a relação C:N menor, proporciona acréscimo nos pigmentos fotossintéticos e no teor de proteína e influencia na atividade da redutase do nitrato.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L., adubação foliar, atividade enzimática, glutamina

### ABSTRACT

#### Biochemistry assessment of corn plants sprayed with urea only and in association with aminoacids

Nitrogen (N) utilization by corn plants at fertilization is often lesser to 50%, due to losses by urea lixiviation, desnitrification and volatilization. An alternative to complement the N requirement would be foliar fertilization using amino acids as N organic source. This work was carried out to evaluate the efficiency of urea leaf application, isolated and associated with different amino acids, by biochemical assessment in maize seedlings. Seeds of cultivar BRS 3060 were sown in a greenhouse. At five days after emergence (DAE) the first spraying was carried out with the treatments urea 1%, urea 1% + 1.2 mg mL<sup>-1</sup> N of allantoin, asparagine or glutamine and control without nitrogen and aminoacids

Recebido para publicação em dezembro de 2006 e aprovado em abril de 2009

<sup>1</sup> Discentes do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Caixa Postal 354, Universidade Federal de Pelotas, CEP: 96010-900, Pelotas, RS. \*Autor para correspondência e-mail: peccoli@gmail.com; fone: (53)33214942/ (53) 91580564.

<sup>2</sup> Eng. Agrônomo, Prof. Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Caixa Postal 354, Universidade Federal de Pelotas, CEP: 96010-900, Pelotas, RS.

(H<sub>2</sub>O). The application of the different sources, was repeated every five days. At 30 DAE, the plants were taken to the laboratory for biochemical analyses. The ratio C:N was higher in the control without nitrogen, both the shoot and the roots, because of the protein content. Roots presented higher activity with urea associated with glutamine and asparagine. Corn plants showed higher pigment concentration in the treatments with urea only and urea associated with allantoin. The protein content was significantly higher in leaves contrasted with roots. All sources were effective for protein production. The results showed that the treatments urea only and urea associated with different aminoacids, in young corn plants, reduce the ratio C:N, provide increase in both photosynthetic pigments and protein content, and also influence at the activity of nitrate reductase.

**Key words:** *Zea mays* L., leaf spraying, enzymatic activity, glutamine

## INTRODUÇÃO

No Brasil a cultura do milho é de grande importância para o agronegócio nacional, como base de sustentação para a pequena propriedade, constituindo um dos principais insumos no complexo agroindustrial brasileiro, além dos inúmeros benefícios de sua utilização na rotação de culturas no sistema de plantio direto (Teixeira, 2004). A região centro-sul é responsável por mais de 90% da produção nacional (Porto *et al.*, 2009), sendo a participação da região sul de 45% e o Paraná o estado com representatividade de 25% deste total (Araújo *et al.*, 2009). A grande capacidade de adaptação, aliada à sua utilidade, a torna a cultura econômica mais disseminada no Estado o que contribui para a economia estadual sob a forma de produto consumido *in natura* e como matéria-prima das indústrias de transformação (Duarte, 2008).

Durante o estágio de crescimento vegetativo, o milho apresenta alta demanda por nitrogênio (N), e cerca de 50 a 70% do nitrogênio total das folhas é integrante de enzimas que estão associadas aos cloroplastos. Esse nutriente é usado para síntese de clorofilas, aminoácidos, proteínas, vitaminas, enzimas, citocromos, ácidos nucleicos e hormônios, tornando-se de vital importância para que a planta possa atingir o desenvolvimento normal e formar grãos de qualidade. Argenta *et al.* (2001) e Andreeva *et al.* (1998) afirmam que o desenvolvimento e o funcionamento do sistema fotossintético das plantas é dependente da assimilação de nitrogênio, o que é feito à custa de um consumo energético, comparável ao gasto na redução do carbono. O teor de N nas folhas é muito influenciado pela adubação nitrogenada, e segundo (Killorn & Zourarakis, 1992), a concentração foliar de nitrogênio reflete sua disponibilidade no solo, sendo que sua análise pode ser útil na detecção de deficiência de N e, conseqüentemente, na predição de produção de grãos. A adubação nitrogenada influencia não só a produtividade, mas também a qualidade do produto em conseqüência do teor de proteína nos grãos de milho (Sabata & Mason, 1992; Ferreira *et al.*, 2001).

O teor de clorofila na folha também se correlaciona positivamente com o teor de nitrogênio na planta, pois 50 a 70% do nitrogênio total das folhas é integrante de enzimas que estão associadas aos cloroplastos (Argenta *et al.*, 2001). A fonte de N disponível afeta a quantidade absorvida que por sua vez influenciará na relação carbono:nitrogênio (C:N) das plantas. Entre os elementos essenciais à vida da planta, há cerca de três vezes mais átomos de N na matéria seca do que de qualquer outro (Santos *et al.*, 2004).

A rota de assimilação do nitrato em plantas superiores envolve dois estágios seqüenciais. A conversão do nitrato à amônia, mediada pela reductase do nitrato (E.C. 1.6.6.2), a qual reduz nitrato a nitrito, e pela nitrito reductase, que converte nitrito à amônia. O amônio é então assimilado nos aminoácidos glutamina e glutamato, os quais servem para translocar nitrogênio orgânico de fontes para drenos (Kleinhofs & Warner, 1990; Lam *et al.*, 1996; Purcino *et al.*, 1998). Quando o N na forma de nitrato é adicionado ao meio de cultivo, a atividade da reductase do nitrato (Oaks, 1992) e a quantidade de proteína reductase do nitrato (Somers *et al.*, 1983) são aumentadas em diferentes tecidos das folhas e raízes, embora a atividade da referida enzima varie em função de alguns fatores, entre eles a própria concentração de nitrato.

A utilização do N via solo apresenta limitações, pois o aproveitamento do nitrogênio usado no adubo é normalmente inferior a 50%, podendo em solos arenosos, atingir entre 5 a 10% (Duque *et al.*, 1985), devido as elevadas perdas de N que podem ocorrer por lixiviação ou desnitrificação (Osiname *et al.*, 1993; Strieder *et al.*, 2003) e volatilização da uréia (Ernani *et al.*, 2003; Sangoi *et al.*, 2003). Sabe-se que o lugar da adubação foliar na prática agrícola é de complemento à adubação feita no solo, no que diz respeito ao fornecimento de nitrogênio, fósforo e potássio para as culturas. Ainda assim, a incorporação de N via adubação foliar com aminoácidos poderia suplementar o fornecimento via solo em determinados estágios de crescimento. O uso de fertilização direta nas

plantas, com aminoácidos livres, evita a transformação química do nitrogênio nítrico e amoniacal, em aminoácidos, havendo rápida incorporação ao metabolismo como se fossem sintetizados pela planta, contribuindo para o processo de desenvolvimento e crescimento (Raven *et al.*, 2001).

Existem alguns trabalhos demonstrando a vantagem na utilização de adubos nitrogenados, via folha, em complemento à adubação tradicional nos sulcos (Carvalho *et al.*, 2002). O uso de biofertilizantes tem sido testado com algum sucesso, pois reduz o uso de fertilizantes minerais diminuindo custos e proporcionando aumento na produtividade das lavouras, principalmente se as pulverizações forem associadas a defensivos (Medeiros & Lopes, 2006).

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência da aplicação foliar de uréia, isolada e associada a diferentes aminoácidos, através da avaliação bioquímica em plantas jovens de milho.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas sementes de milho, cultivar BRS 3060, de uso comum no Rio Grande do Sul, cultivadas em vasos de polietileno com capacidade para 1,5 kg de areia lavada como substrato e mantidas em ambiente de casa de vegetação climatizada com temperatura controlada de  $28 \pm 1$  °C e UR 80%. As plantas de milho foram pulverizadas com os tratamentos uréia 1%; uréia 1% + glutamina ( $1,2 \text{ mg N mL}^{-1}$ ), uréia 1% + asparagina ( $1,2 \text{ mg N mL}^{-1}$ ), uréia 1% + alantóina ( $1,2 \text{ mg N mL}^{-1}$ ) e controle sem nitrogênio e sem aminoácidos ( $\text{H}_2\text{O}$ ), aplicadas via foliar, sendo que em todos os tratamentos foram colocados 0,2 mL de dispersante *jet oil*. Aos cinco dias após a emergência (DAE) foi feita a primeira aplicação das diferentes fontes de N, sendo que esta se repetiu a cada cinco dias, até o término do experimento. Nos intervalos das aplicações foi fornecida às plantas solução de Hoagland (Hoagland & Arnon, 1950), modificada sem nitrogênio. O volume aplicado de cada fonte foi inicialmente de 5 mL e posteriormente de 10 mL para todos os vasos. Em cada vaso foi utilizada uma “capa plástica” a fim de evitar a contaminação do substrato com uréia.

Aos 30 dias após a emergência (DAE) foi realizada a coleta das plantas, as quais foram cuidadosamente retiradas dos vasos, e separadas em parte aérea e raiz para realização das análises bioquímicas. Em seguida, as plântulas foram devidamente acondicionadas e transferidas para estufa calibrada para  $75 \pm 1$  °C, onde permaneceram até atingir massa constante, determinando-se a massa de matéria seca da parte aérea.

Para a quantificação da redutase do nitrato, foi determinado o peso de matéria fresca de segmentos foliares,

adicionando-se a eles 5 mL do meio de incubação, submetendo-os a vácuo por 5 minutos no escuro, transferindo-se para banho-maria a 30 °C, também no escuro, por 30 minutos. Após, decorrido este tempo, foram retiradas alíquotas de 2 mL, determinando-se o teor de nitrito adicionando-se 0,3 mL de sulfanilamida a 1% em HCl 3N; 0,3 mL de N-1 naftil etilenodiamida 0,2% e 1,4 mL de água destilada, deixando-se as amostras em repouso por 20 minutos. Em seguida a leitura foi feita em espectrofotômetro no comprimento de onda de 540 nm. A atividade da nitrato redutase foi determinada pelo método *in vivo* de acordo com (Jaworski, 1971).

Para a extração de proteínas, as folhas foram homogeneizadas em almofariz com auxílio de pistilo em 10 mL de NaOH 0,1N. O extrato obtido foi centrifugado a 2.500 g por 5 minutos, alíquotas de 100 µL foram tomadas para a determinação de proteínas pelo método “dye-binding” de (Bradford, 1976) utilizando-se soro albumina bovina (BSA) como padrão.

A relação C:N foi obtida através da razão entre massa seca total das plantas e o teor de proteínas.

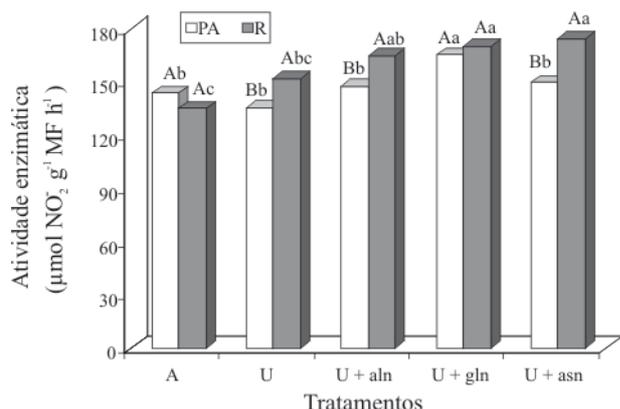
As clorofilas *a*, *b* e carotenóides foram extraídos pelo método de Arnon (Arnon, 1945), sendo o material devidamente pesado, macerado com acetona 80%, etapa essa realizada no escuro. O material macerado foi filtrado em papel de filtro de filtração rápida e o volume completado para 50 mL em balão volumétrico, com acetona 80%. As absorbâncias foram lidas a 470, 647 e 663 nm para carotenóides, clorofilas *b* e *a* respectivamente (Lichtenthaler, 1987). A soma das clorofilas *a* e *b* representa o resultado da clorofila total.

A unidade experimental constituiu-se de um vaso contendo duas plantas. Os tratamentos, repetidos cinco vezes, foram dispostos inteiramente ao acaso e os seus efeitos testados pelas médias obtidas, as quais foram comparadas pelo teste Tukey a 1 % de probabilidade.

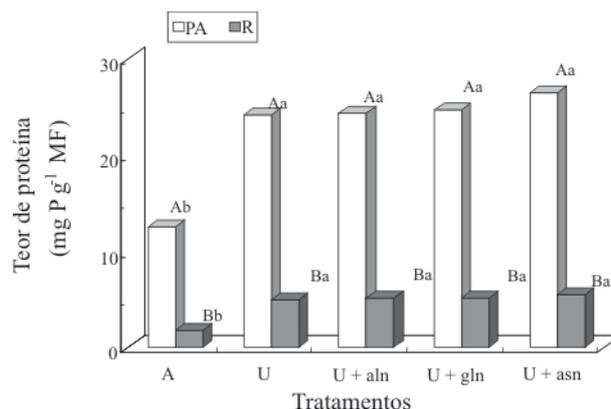
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se atividade da redutase do nitrato tanto nas raízes quanto nas folhas (Figura 1). Isto pode ocorrer de maneira simultânea ou não entre esses órgãos, de acordo com a espécie (Pate, 1980) e com as condições ambientais (Costa, 1986). Outro fator extremamente importante é a forma como o nitrogênio é fornecido à planta, o que pode promover alterações na atividade da enzima.

Em geral houve maior atividade da redutase do nitrato nas raízes do que nas folhas, independentemente da fonte nitrogenada utilizada (Figura 1). Nas folhas, o tratamento mais efetivo foi uréia + glutamina; nas raízes as fontes nitrogenadas utilizadas foram igualmente eficientes (Figura 1), demonstrando que as folhas apresentaram maior sensibilidade de enzima a variações na fonte de nitrogênio, sendo que diferentes aminoácidos podem acar-



**Figura 1.** Atividade da redutase do nitrato, em plantas jovens de milho pulverizadas com água (A), uréia 1% (U), isolada e em associação com alantoína (aln), glutamina (gln) e asparagina (asn), aos 30 DAE. Médias seguidas de letras maiúsculas distintas, diferem entre si, na comparação entre parte aérea (PA) e raízes (R), e minúsculas entre os tratamentos, em cada parte da planta, pelo teste Tukey à 1% de probabilidade.



**Figura 2.** Teor de proteína em plantas jovens de milho pulverizadas com água (A), uréia 1% (U) isolada e em associação com alantoína (aln), glutamina (gln) e asparagina (asn), aos 30 DAE. Médias seguidas de letras maiúsculas distintas, diferem entre si, na comparação entre parte aérea (PA) e raízes (R); e minúsculas entre os tratamentos, em cada parte da planta, pelo teste Tukey à 1% de probabilidade.

retar diferentes respostas na atividade da redutase do nitrato (Aslam *et al.*, 2001).

A atividade, como também a síntese, da redutase do nitrato é influenciada por vários estímulos ambientais (Costa, 1986) e endógenos (Srivastava, 1980), dentre os quais, diferentes aminoácidos. Aslam *et al.* (2001) avaliando o efeito diferencial de vários aminoácidos sobre a atividade da redutase do nitrato em cevada, observaram que ácido glutâmico, ácido aspártico, glutamina e asparagina inibiram a atividade da enzima, no entanto o efeito é diferencial nas raízes e folhas, o que foi observado também neste experimento com plantas jovens de milho.

Os tratamentos com diferentes fontes de nitrogênio apresentaram um aumento no teor de proteína, em relação ao controle, tanto na parte aérea quanto nas raízes (Figura 2). Porém não diferiram estatisticamente entre si. Observou-se que o teor de proteínas foi significativamente superior nas folhas, atingindo uma diferença de 280%, em média, comparando-se os teores nas folhas e nas raízes nas diferentes formas de N aplicadas via folha (Figura 2). Isto, provavelmente ocorreu devido a maior disponibilidade nas folhas tendo em vista que o fornecimento de N ocorreu via pulverização foliar. Não houve diferença significativa entre as diferentes fontes de N, ou seja, todas foram igualmente eficientes, tendo em vista que superaram o controle sem nitrogênio.

O mesmo padrão de comportamento foi verificado nas raízes, onde os teores de proteínas solúveis totais foram estatisticamente iguais entre os tratamentos e superiores ao controle. Ao que parece, todas as fontes de nitrogênio aplicadas nas folhas, foram efetivamente absorvidas e utilizadas como fonte nitrogenada para a produção de aminoácidos e posteriormente proteínas.

A relação C:N (Tabela 1), foi maior no controle sem nitrogênio, tanto na parte aérea quanto nas raízes, possivelmente este resultado deve-se ao menor conteúdo de proteína apresentado no controle sem nitrogênio, em relação aos demais tratamentos. Como não houve grande variação na massa de matéria seca (Tabela 1), o fator que contribuiu para menor relação C:N foi o maior teor de proteínas presentes nos tratamentos com uréia isolada e associada aos aminoácidos, visto que a relação C:N é dada pela razão entre os conteúdos de massa de matéria seca e proteínas solúveis totais.

Não houve diferença significativa na relação C:N na parte aérea entre as diferentes fontes de nitrogênio; no entanto na raiz, a uréia quando associada à asparagina causou decréscimo na relação C:N em comparação às outras fontes de nitrogênio (Tabela 1). Comparando-se a uréia isolada com a associação uréia mais asparagina na raiz o decréscimo na relação C:N deste último tratamento foi de

**Tabela 1.** Massa de matéria seca total (MST) e relação carbono/nitrogênio (C:N), na parte aérea (PA) e sistema radical (SR), em plantas jovens de milho pulverizadas com água (A), uréia isolada a 1% (U), e em associação com alantoína (aln), glutamina (gln) e asparagina (asn), aos 30 DAE

Tratamento	MST (g)	Relação C:N	
		PA	SR
Água	0,37 a	0,0112a*	0,0582a
Uréia	0,39 a	0,0074b	0,0396b
U + aln	0,40 a	0,0078b	0,0358b
U + gln	0,39 a	0,0084ab	0,0348b
U + asn	0,35 a	0,0094ab	0,0198c
CV (%)	13,18	18,45	15,83

\*Médias seguidas de letras minúsculas distintas, na coluna, diferem entre si, pelo teste Tukey à 1% de probabilidade.

50 %. Para a estimativa da relação C:N, tomou-se por base o quociente entre o conteúdo de massa de matéria seca total e o teor de proteínas solúveis totais. Tendo em vista que não houve alterações significativas no acúmulo de massa de matéria seca das raízes, o decréscimo na relação C:N provavelmente foi devido ao maior teor de proteínas nas raízes sob o fornecimento de asparagina.

Esse aminoácido não atua apenas como precursor de proteínas, mas também como um elemento-chave no transporte e no armazenamento do nitrogênio, devido à sua estabilidade e a elevada razão nitrogênio:carbono (2N:4C) (Taiz & Zieger, 2004). Provavelmente, ocorreu um maior transporte da asparagina até as raízes onde foi investido como fonte nitrogenada para a produção de proteínas neste órgão vegetal.

Observou-se efeito da fonte nitrogenada aplicada via folhas sobre o teor de pigmentos cloroplastídicos (Tabela 2) em plantas jovens de milho. Em relação ao teor de

clorofila *a*, ocorreu uma diferença de 32,9 % comparando-se o incremento no teor do pigmento nas plantas fertilizadas com uréia associada à alantoína em relação ao controle sem nitrogênio. A diferença foi de 44 %, 31 % e 25 % para a mesma comparação e para os teores de clorofila *b*, clorofila total e carotenóides, respectivamente. Em geral não houve diferença significativa entre os tratamentos com uréia isolada ou em associação com alantoína e glutamina, porém, quando se utilizou a asparagina e uréia em conjunto, ocorreu decréscimo significativo nos teores dos pigmentos avaliados, comparando-se ao controle sem nitrogênio. Isto demonstra que há efeito antagônico ou sinérgico entre fontes orgânicas e inorgânicas de nitrogênio, o que pode influenciar o uso do mineral para a biossíntese de pigmentos nas folhas, tendo em vista que o teor de N disponível nas folhas se correlaciona com o teor de clorofila nesses órgãos (Argenta *et al.*, 2001).

**Tabela 2.** Concentração de pigmentos, em plantas jovens de milho pulverizadas com água (A), uréia 1% (U) isolada e em associação com alantoína (aln), glutamina (gln) e asparagina (asn), aos 30 DAE

Tratamento	Concentração de pigmentos ( $\mu\text{g Pig mg}^{-1}\text{MF}$ )			
	Chl <i>a</i>	Chl <i>b</i>	Chl T	Carot.
Água	0,88 b	0,25 b	1,13 b	0,28 b
Uréia	1,11 a	0,34 a	1,52 a	0,35 a
U + aln	1,17 a	0,36 a	1,48 a	0,35 a
U + gln	1,02 ab	0,30 ab	1,26 ab	0,26 b
U + asn	0,89 b	0,29 ab	1,16 b	0,27 b
CV (%)	13,33	11,03	10,80	1,69

\*Médias seguidas de letras minúsculas distintas, na coluna, diferem entre si, pelo teste Tukey à 1% de probabilidade.

## CONCLUSÕES

Com base nos resultados e nas condições em que o experimento foi realizado conclui-se que:

A atividade da redutase do nitrato é influenciada por diferentes fontes de nitrogênio na forma de aminoácidos.

Os tratamentos com uréia isolada e em associação com aminoácidos aumentaram o teor de proteína em plantas jovens de milho, tanto na parte aérea quanto nas raízes.

A aplicação de uréia associada à aminoácidos torna a relação C:N menor, tanto na parte aérea quanto nas raízes.

A uréia isolada e em associação com alantoína, possibilitou o acréscimo na concentração de pigmentos fotossintéticos.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS

- Andreeva TF, Maevskaya SN & Voewdskaya SYU (1998) The relationship between photosynthesis and nitrogen assimilation in mustard plants exposed to elevated nitrate rates in nutrient solution. *Russian Journal of Plant Physiology*, 45:702-705.
- Araújo H da C, Souza MA de & Branco TCV (2009) Indicadores IBGE - Estatística da produção agrícola. 46p. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acessado em: 05 abril 2009.
- Argenta G, Silva PRF & Bortoloni CG (2001) Clorofila na folha como indicador do nível de nitrogênio em cereais. *Revisão bibliográfica. Ciência Rural*, 31:715-722.
- Arnold DJ (1945) Cooper enzymes in isolated chloroplast: Polyphenoloxidase In *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24:1-15.
- Aslam M, Travis RL & Rains DW (2001) Effects of different aminoacids on the uptake systems nitrogen in root plant. *Plant Science*, 160:219-228.
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding. *Analytical Biochemistry*, 72:248-254.
- Carvalho MA, Paulino HB, Buzetti S & Athayde ML (2002) Uso da adubação foliar nitrogenada e potássica no algodoeiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 24 :27-32.

- Costa EM (1986) Efeitos do alumínio, nitrato e amônio sobre a nutrição nitrogenada em *Eucaliptus grandis* Hill. Tese de mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 50 p.
- Duarte JO (2008) Cultivo do milho: Mercado e comercialização. 4ª ed. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho>. Acessado em: 05 abril 2009.
- Duque FF, Neves MCP, Franco AA, Victoria RL & Boddey RM (1985) The response of field grown *Phaseolus vulgaris* L. Rhizobium inoculation and qualification of N<sub>2</sub> fixation using <sup>15</sup>N. *Plant and Soil*, 88:333-343.
- Ernani PR, Sangoi L, Bianchet P, Horn D, Schweitzer C, Gracietti MA, Schmitt A & Motter F (2003) O efeito do fertilizante nitrogenado na germinação e crescimento inicial do milho depende da fonte e do tipo de solo. In: VI Reunião Técnica Catarinense de Milho e Feijão, VI Reunião Sulbrasileira de Feijão, Lages. Anais. p.191-195.
- Ferreira BCA, Araújo AAG, Pereira GRP & Cardoso AA (2001) Características agrônomicas e Nutricionais do milho adubado com Nitrogênio, Molibdênio e Zinco. *Scientia Agrícola*, 58:131-138.
- Hoagland DR & Arnon DI (1950) The water culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experimental Station*, circular 347, p. 1-39.
- Jaworski EG (1971) Nitrate reductase assay in intact plant tissues. *Biochemical Biophysical Research Communications*, 43:1274-1290.
- Kleinhofs A & Warner RL (1990) Advances in nitrate assimilation. In: Miffl BJ & Stewart PJ (Eds). *The Biochemistry of plants*. Academic Press Incorporation. London, p.89-120.
- Killorn R & Zourarakis D (1992) Nitrogen fertilizer management effects on corn grain yield and nitrogen uptake. *Journal of Production Agriculture*, 5:142-148.
- Lam HM, Coschigano KT & Oliveira IC (1996). The molecular-genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 47:569-593.
- Lichtenthaler HK (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology*, 148:350- 382.
- Medeiros MB de & Lopes J da S (2006) Biofertilizantes líquidos e sustentabilidade agrícola. *Bahia Agrícola*, 7:24-26.
- Oaks A (1992) Nitrogen assimilation in roots: a re-evaluation. *Bioscience*, 142:103-111.
- Osiname O, Van Gin H & Ulex PLG (1993) Effect nitrification inhibitions of the fate and efficiency of nitrogenous fertilizers under simulated humid tropical conditions. *Tropical Agriculture*, 60:211-217.
- Pate TS (1980) Transport and partitioning of nitrogenous solutes. *Annual Review of Plant Physiology*, 31:313-340.
- Porto SI, Silva ACP da & Oliveira EP de (2009) Acompanhamento da safra brasileira: grãos safra 2008/2009 8º levantamento 39p. CONAB Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb>. Acessado em: 25 maio 2009.
- Purcino AAC, Arellano C, Athawal GS & Huber SH (1998) Nitrate effect on carbon nitrogen assimilation enzymes of maize hybrids representing seven eras of breeding. *Maidiga*, 43:83-94.
- Raven PH, Evert RF & Eichhorn SE (2001) *Biologia Vegetal*. 6ª Ed. Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro. 905p.
- Sabata RJ & Mason SC (1992) Corn hybrid interactions with soil nitrogen level and water regime. *Journal of Production Agriculture*, 5:137-142.
- Sangoi L, Ernani PR, Lech VA & Rampazzo C (2003) Lixiviação de nitrogênio afetada pela forma de aplicação de uréia e manejo de restos culturais de aveia em dois solos com texturas contrastantes. *Ciência Rural*, 33:65-70.
- Santos LP, Vieira C, Sedyama T & Sedyama CS (2004) Adubação nitrogenada e molibdica na cultura da soja: influência sobre a maturação, índice de colheita e peso médio das sementes. *Revista Ceres*, 51:429-444.
- Somers DA, Kuo TM, Kleinhofs A, Warner RL & Oaks A (1983) Synthesis and degradation of barley nitrate reductase. *Plant Physiology*, 72:948-952.
- Srivastava HS (1980) Regulation of nitrate reductase activity in higher plants. *Phytochemistry*, 19:725-733.
- Strieder ML, Coser RP da S, Silva PRF, Argenta G, Rambo L, Forsthofer LE, Shure E & Silva AA (2003) Incrementos no rendimento e teor de proteína do grão em híbridos de milho com adubação nitrogenada no espigamento e emborrachamento. In: IV Reunião Técnica Catarinense de Milho e Feijão. VI Reunião Sulbrasileira de Feijão, Lages. Anais. p.95-98.
- Taiz L & Zeiger E (2004) *Fisiologia Vegetal*. 3ª ed. Porto Alegre, Artmed. 719p.
- Teixeira DV (2004) Milho: superando limites de produtividade. *Informativo*, Ano XXII, n. 166. Disponível em: [www.manah.com.br/informativos](http://www.manah.com.br/informativos). Acessado em: 05 abril 2009.