

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE AGRONOMIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**DISSERTAÇÃO**

**Atividade das enzimas nitrogenase e nitrato  
redutase em plantas de feijoeiro oriundas de  
sementes com diferentes teores de molibdênio**

**Fernanda Fátima Delgado de Almeida**

**2010**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE AGRONOMIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**Atividade das enzimas nitrogenase e nitrato redutase em plantas de feijoeiro oriundas de sementes com diferentes teores de molibdênio.**

**Fernanda Fátima Delgado de Almeida**

*Sob a Orientação do Professor*

**Adelson Paulo de Araújo**

*e Co-orientação do Pesquisador*

**Bruno José Rodrigues Alves**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, Área de Concentração em Fisiologia da Produção.

Seropédica, RJ

Fevereiro de 2010

635.652

A447a

T

Almeida, Fernanda Fátima Delgado de, 1978-

Atividade das enzimas nitrogenase e nitrato redutase em plantas de feijoeiro oriundas de sementes com diferentes teores de molibdênio / Fernanda Fátima delgado de Almeida. - 2010.

65f. : il.

Orientador: Adelson Paulo Araújo.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia.

Bibliografia: f. 35-41.

1. Feijão comum - Semente - Teses. 2. Feijão comum - Efeito do molibdênio - Teses. 3. Nitrogênio - Fixação - Teses. I. Araújo, Adelson Paulo de, 1963-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**

**INSTITUTO DE AGRONOMIA**

**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**Fernanda Fátima Delgado de Almeida**

Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, área de concentração em Fisiologia da Produção, como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, em Fitotecnia, área de concentração em Fisiologia da Produção.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 11 / 02 / 2010

---

Adelson Paulo de Araújo, D.Sc. UFRRJ.  
(Orientador)

---

Jorge Jacob Neto, PhD. UFRRJ

---

Rosângela Stralotto, D.Sc. EMBRAPA Agrobiologia

## DEDICATÓRIA

*A Deus, pela vida e por me dar forças para vencer mais esta etapa.*

*Aos meus pais, Aristides (em memória) e Victória pela presença de oração em todos os dias na minha vida e exemplo de vida, muito obrigada.*

*Aos meus irmãos, Hamilton, Bernadete, Elizabete, Milton, Luiz e Marcio (em memória), por tudo que passamos e o quanto sou grata por me ajudarem a chegar até aqui. “Saudades de todos juntos lá em casa”.*

*Aos meus queridos sobrinhos Junior, João, Victória, Carolina e Clara por toda alegria em minha vida.*

*Ao Dionízio pela cumplicidade com nossos sonhos, apoio nas tantas horas difíceis que passamos e por fazer parte da minha vida.*

## **OFEREÇO**

*Ao meu irmão Márcio, um agricultor que me ensinou o valor do trabalho no campo.*

*Saudades...*

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRuralRJ), pelos anos de acolhida.

Ao curso de Pós-graduação em Fitotecnia, pela oportunidade e apoio durante o período de realização deste trabalho.

À CAPES, pela bolsa de estudos.

Ao meu orientador, Prof. Adelson, pela orientação, paciência e conhecimentos que contribuíram na minha formação profissional e na vida.

Ao meu co-orientador, Pesquisador Bruno Alves, pela orientação e apoio durante a realização deste trabalho.

À EMBRAPA Agrobiologia pelo apoio na condução dos experimentos.

Aos funcionários da Embrapa Agrobiologia, Claudinho, Naldo, Aurélio, Sergio, Ernani, Monalisa, Giselle, Rômulo, Carol, Altiberto, Roberto, Selmo, pelo apoio na condução e análises do experimento.

Aos colegas do laboratório de Nutrição Mineral de Plantas da UFRRJ, Leandro e Carlos, pela ajuda no preparo das soluções para medir a enzima nitrato redutase.

Ao pesquisador da Embrapa Solos, Daniel Vidal Pérez, pelas análises de teor de molibdênio nas sementes.

Aos alunos do curso de Agronomia, Barbara, Maycon e Artur, pela ajuda nas coletas.

Aos amigos ruralinos Pufyt, Andréia, Gan, Bruno, João Goiano, Joelson, Alessandra, Andréia (grandona), Juliana, Danúbia, Cícero, Flavia, Fabiano, Claudia, Giselle, Marina, Zé, Carol, Amanda, Charles, amigos vocês vão sempre fazer parte da minha vida. Já com saudades.

Ao alojamento da Pós-graduação, Gatita, Juju, Pretinha, Renata, Almira, Joice, Ucha, Sandra, Isabel, Fabíola, Carol, Tatiana, Patrícia, Clarice, Elizabete, Gislane, Kely, Jaciane, Maria Clara, Daniele, Cristiana, Michelle, Sabrina, Vivian, Paula, Ana Paula, Ariane, Fabiana, Geise, Danúbia e Kênia, pelas boas prosas e café gostoso na cozinha do alojamento.

À amiga Cristiana, pelos conselhos, oração e presença amiga.

A toda minha família.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, deram sua contribuição.

Muito obrigada.

## **BIOGRAFIA**

Fernanda Fátima Delgado de Almeida, filha de Aristides de Almeida Filho e Victória Maria Delgado de Almeida, nasceu em Lima Duarte, Estado de Minas Gerais, em 4 de fevereiro de 1978. cursou o segundo grau no colégio Adalgisa de Paula Duque, em Lima Duarte-MG. Em 2007, concluiu o curso de Engenharia Agrônoma na Universidade Federal Rural Rio de Janeiro. No mesmo ano fez parte do programa de residência no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA/RJ na área de fomento na produção vegetal, onde permaneceu até março de 2008. Iniciou em 2008 o curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, ao nível de Mestrado, na Universidade Federal Rural Rio de Janeiro.

## RESUMO GERAL

ALMEIDA, Fernanda Fátima Delgado. **Atividade das enzimas nitrogenase e nitrato redutase em plantas de feijoeiro originadas de sementes com diferentes teores de molibdênio.** Seropédica: UFRRJ, 2010. 41 p. (Dissertação, Mestrado em Fitotecnia).

Sementes com elevadas concentrações de molibdênio (Mo) podem fornecer quantidades do nutriente suficientes para garantir adequado crescimento às plantas. Foram conduzidos um ensaio e dois experimentos com objetivo de avaliar o efeito do teor de Mo em sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) na assimilação do N do solo e na fixação biológica do N<sub>2</sub> (FBN), através da mensuração das atividades das enzimas nitrogenase e nitrato redutase, e da contribuição da FBN pela diluição isotópica de <sup>15</sup>N, em diferentes estádios de desenvolvimento vegetal. O substrato foi horizonte A de Argissolo em vasos de 10 kg, utilizando-se sementes da cultivar Carioca enriquecidas ou não com Mo. O ensaio teve arranjo fatorial 2x3: dois teores de Mo na semente (baixo e alto) e três fontes de N (sem N, inoculado e N mineral), com duas repetições e coleta aos 42 dias após emergência (DAE). O alto Mo da semente aumentou a atividade da nitrato redutase, a massa e a acumulação de N na parte aérea, mas reduziu o número de nódulos. O experimento 1 teve arranjo fatorial 2x2x4: dois teores de Mo na semente (baixo e alto), duas fontes de N (inoculado e N mineral) e quatro épocas de coleta (20, 34, 45 e 55 DAE), com cinco repetições. Foi incluído um tratamento extra, com sementes com alto Mo, inoculação e adição de Mo ao solo. Não foi identificado efeito do Mo adicionado ao solo quando comparado com o alto Mo na semente. O alto Mo na semente aumentou a área foliar e a massa de parte aérea nas quatro épocas de coleta, e a massa de vagem aos 55 DAE, nas duas fontes de N. Sementes com alto Mo aumentaram a atividade da nitrato redutase aos 45 DAE sob N mineral, e a atividade da nitrogenase aos 20 e 45 DAE sob inoculação. Sementes com alto Mo aumentaram a acumulação de N na parte aérea nas duas fontes de N no estágio de enchimento das vagens. O experimento 2 teve arranjo fatorial 2x2x2: dois teores de Mo na semente (alto e baixo), duas fontes de N (inoculado e N mineral) e duas coletas (38 e 51 DAE), com cinco repetições. O solo foi previamente adubado com uréia enriquecida com <sup>15</sup>N. O feijão não nodulante, girassol e sorgo serviram como plantas controle. Aos 51 DAE, plantas oriundas de sementes com alto Mo tiveram maior massa de parte aérea nas duas fontes de N, mas menor número de nódulos sob N mineral. O alto Mo nas sementes aumentou a atividade da nitrato redutase aos 51 DAE, nas duas fontes de N, e a atividade da nitrogenase aos 38 DAE nas plantas inoculadas. Sementes com alto Mo aumentaram a acumulação de N na parte aérea nas duas fontes de N. Sementes com alto Mo aumentaram a contribuição da FBN no estágio de formação das vagens. Conclui-se que sementes de feijoeiro enriquecidas com Mo estimulam tanto a assimilação do N do solo quanto a FBN, aumentando a acumulação de biomassa e de N do feijoeiro.

**Palavras-chave:** Nodulação, fixação biológica de nitrogênio, *Phaseolus vulgaris*.

## ABSTRACT

ALMEIDA, Fernanda Fátima Delgado. **Activities of nitrogenase and nitrate reductase enzymes in common bean plants originating from seeds with different molybdenum concentrations.** Seropédica: UFRRJ, 2010. 41 p. (Dissertation, Master of Science in Fitotecny).

Seeds with high molybdenum (Mo) concentration can provide amounts of the nutrient highly enough to guarantee an adequate plant growth. An essay and two experiments were carried out in pots to evaluate the effect of Mo concentration in seeds of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) on the assimilation of N from the soil and the biological N<sub>2</sub> fixation (BNF), through measuring the activities of the nitrogenase and nitrate reductase enzymes and the contribution of the BNF by the <sup>15</sup>N isotope dilution, at different plant growth stages. The substrate was A horizon of Argisol (Hapludult) in 10 kg pots. Seeds of the cultivar Carioca enriched or not with Mo were tested. The essay had a 2x3 factorial design: two seed Mo concentrations (low and high) and three N sources (without N, inoculated and mineral N), with two replicates. Plants were harvested at 42 days after emergence (DAE). High concentration of Mo in seeds increased shoot dry mass, the nitrate reductase activity and shoot N accumulation, but reduced nodule number. The experiment 1 had a 2x2x4 factorial design: two seed Mo concentrations (low and high), two N sources (inoculated and mineral N) and four dates of harvest (20, 34, 45 and 55 DAE), with five replicates. An extra treatment was included, with seeds with high Mo concentration, inoculation and Mo added to the soil, with four harvests. No effect of Mo added to the soil was identified, as compared to the high seed Mo. High seed Mo increased the leaf area and shoot dry mass at the four times of harvest, and the pod mass at 55 DAE, at both N sources. Seeds with high Mo concentration increased the nitrate reductase activity at 45 DAE under mineral N, and nitrogenase activity at 20 and 45 DAE under inoculation. High Mo seeds increased shoot N accumulation at both N sources at pod filling stage. The experiment 2 had a 2x2x2 factorial design: two seed Mo concentrations (low and high), two N sources (inoculated and mineral N) and two dates of harvest (38 and 51 DAE), with five replicates. The soil was previously fertilized with <sup>15</sup>N-enriched urea. Non-nodulating bean, sunflower and sorghum were used as control plants. At 51 DAE, plants originating from high Mo seeds had higher shoot mass at both N sources, but lower nodule number under mineral N. High Mo seed increased nitrate reductase activity at 51 DAE at both N sources, and nitrogenase activity at 38 DAE in inoculated plants. High Mo seeds increased shoot N accumulation at both N sources. High Mo seeds improved the contribution of the BNF at the pod filling stage, as estimated by the <sup>15</sup>N isotope dilution technique. It is concluded that common bean seeds enriched with Mo stimulate the assimilation of N from the soil and the BNF, increasing the accumulation of biomass and N of bean plants.

**Key words:** Nodulation, biological nitrogen fixation, *Phaseolus vulgaris*.

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Visão geral do experimento. ....	10
<b>Figura 2.</b> Área foliar (a) e massa seca de parte aérea (b) de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), em quatro épocas de avaliação. As barras verticais representam a diferença mínima significativa do teste de Tukey ao nível de 5%, e comparam os quatro tratamentos dentro de cada coleta. ....	17
<b>Figura 3.</b> Atividade das enzimas nitrogenase AN (a) e nitrato redutase ANR (b) de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), em quatro épocas de avaliação. As barras verticais representam a diferença mínima significativa do teste de Tukey ao nível de 5%, e comparam os quatro tratamentos dentro de cada coleta. ....	20
<b>Figura 4.</b> Conteúdo de N na parte aérea de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), em quatro épocas de avaliação. As barras verticais representam a diferença mínima significativa do teste Tukey ao nível de 5%, e comparam os quatro tratamentos dentro de cada coleta. ....	22
<b>Figura 5.</b> Massa seca de parte aérea (a) e conteúdo de N na parte aérea (b) de plantas de feijoeiro originadas de sementes com alto teor de Mo, inoculação com rizóbio e adição de Mo no solo, em quatro épocas de avaliação. ....	24

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Teores de Mo e massa de 100 sementes, das sementes da cultivar Carioca utilizada nos dois experimentos de vaso. ....	8
<b>Tabela 2.</b> Massa seca de folha, caule, parte aérea, raiz, nódulo, massa unitária de nódulo, massa total, número de nódulos e atividade da nitrato redutase de plantas de feijoeiro, originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob três fontes de N (testemunha sem N, inoculação com rizóbio e N mineral), aos 42 dias após emergência. ....	13
<b>Tabela 3.</b> Teor de N na folha, caule, raiz e nódulo e conteúdo de N na parte aérea, raiz, nódulo e total de plantas de feijoeiro, originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob três fontes de N (testemunha sem N, inoculação com rizóbio e N mineral), aos 42 dias após emergência. ....	14
<b>Tabela 4.</b> Data de floração das plantas de feijoeiro, originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral). ....	15
<b>Tabela 5.</b> Área foliar, massa seca de parte aérea, massa seca de raiz, massa seca de vagem e massa seca total de plantas de feijoeiro, originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), aos 20, 34, 45 e 55 dias após emergência. ....	16
<b>Tabela 6.</b> Massa seca de nódulo, massa unitária de nódulo e número de nódulos de plantas de feijoeiro, originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), aos 20, 34, 45 e 55 dias após emergência. ....	18
<b>Tabela 7.</b> Atividade da nitrato redutase em folhas, atividade da nitrogenase no sistema radicular e atividade específica da nitrogenase, de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), aos 20, 34, 45 e 55 dias após emergência. ....	19
<b>Tabela 8.</b> Teor de N na folha, caule, raiz, vagem e nódulo de plantas de feijoeiro, originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), aos 20, 34, 45 e 55 dias após emergência. ....	21
<b>Tabela 9.</b> Conteúdo de N na parte aérea, raiz, vagem e nódulo de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), aos 20, 34, 45 e 55 dias após emergência. ....	22
<b>Tabela 10.</b> Taxas de assimilação líquida e crescimento absoluto de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, calculada pelo método clássico de análise de crescimento vegetal para cada intervalo de coletas aos 20, 34, 45 e 55 dias após emergência. ....	23
<b>Tabela 11.</b> Data de floração nas plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral). ....	24
<b>Tabela 12.</b> Massa seca de folha, caule, parte aérea, raiz e vagem de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), aos 38 e 51 dias após emergência. ....	25
<b>Tabela 13.</b> Massa seca de nódulo, número de nódulos, massa unitária de nódulos, massa seca total e massa seca de folhas senescentes (coletadas durante todo o ciclo), de plantas	

de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), aos 38 e 51 dias após emergência.....	26
<b>Tabela 14.</b> Atividade da nitrato redutase em folhas, atividade da nitrogenase no sistema radicular, e atividade específica da nitrogenase de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), aos 38 e 51 dias após emergência. ....	27
<b>Tabela 15.</b> Teor de N na folha, caule, raiz, vagem, nódulo e folha senescente de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), aos 38 e 51 dias após emergência.....	28
<b>Tabela 16.</b> Conteúdo de N na folha, caule, raiz, nódulo, vagem, total e folha senescente de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), aos 38 e 51 dias após emergência. ....	29
<b>Tabela 17.</b> Valores de % <sup>15</sup> N excesso de plantas de sorgo, girassol e feijão não nodulante aos 38 e 51 dias após emergência. ....	30
<b>Tabela 18.</b> Valores de % <sup>15</sup> N excesso em folhas de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixos e altos teores de Mo e que foram inoculadas, aos 38 e 51 dias após emergência (DAE).....	30
<b>Tabela 19.</b> Contribuição da fixação biológica de N (%) nas folhas de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixos e altos teores de Mo e que foram inoculadas, estimada pela diluição isotópica de <sup>15</sup> N, aos 38 e 51 dias após emergência (DAE). ....	30
<b>Tabela 20.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao acúmulo de biomassa de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 42 dias após emergência.....	42
<b>Tabela 21.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao número de nódulos, massa de um nódulo e atividade da enzima nitrato redutase (valores de quadrado médio) aos 42 dias após emergência.....	42
<b>Tabela 22.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao teor de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 42 dias após emergência. ....	42
<b>Tabela 23.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao conteúdo de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 42 dias após emergência. ....	42
<b>Tabela 24.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes à área foliar e acúmulo de biomassa de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 20 dias após emergência.....	43
<b>Tabela 25.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao número de nódulo, atividade das enzimas nitrato redutase, nitrogenase e nitrogenase específica (valores de quadrado médio) aos 20 dias após emergência. ....	43
<b>Tabela 26.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao teor e conteúdo de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 20 dias após emergência. .	43
<b>Tabela 27.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes à área foliar e acúmulo de biomassa de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 34 dias após emergência.....	43

<b>Tabela 28.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao número de nódulo, atividade da enzima nitrato redutase e teor de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 34 dias após emergência. ....	44
<b>Tabela 29.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes à atividade da enzima nitrogenase e nitrogenase específica (valores de quadrado médio) aos 34 dias após emergência.....	44
<b>Tabela 30.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao conteúdo de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 34 dias após emergência. ....	44
<b>Tabela 31.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes à área foliar e acúmulo de biomassa de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 45 dias após emergência.....	44
<b>Tabela 32.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao número de nódulo, atividade das enzimas nitrato redutase, nitrogenase e nitrogenase específica (valores de quadrado médio) aos 45 dias após emergência. ....	44
<b>Tabela 33.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao teor de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 45 dias após emergência. ....	45
<b>Tabela 34.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao conteúdo de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 45 dias após emergência. ....	45
<b>Tabela 35.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes à área foliar e acúmulo de biomassa de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 55 dias após emergência.....	45
<b>Tabela 36.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao número de nódulo, atividade das enzimas nitrato redutase, nitrogenase e nitrogenase específica (valores de quadrado médio) aos 55 dias após emergência. ....	45
<b>Tabela 37.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao teor de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 55 dias após emergência. ....	45
<b>Tabela 38.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao conteúdo de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 55 dias após emergência. ....	46
<b>Tabela 39.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes à floração das plantas (valores de quadrado médio) dos 34 e 45 dias após emergência.....	46
<b>Tabela 40.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes as taxas de crescimento (valores de quadrado médio) intervalo entre as coletas dos 20 aos 34 dias após emergência.....	46
<b>Tabela 41.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes as taxas de crescimento (valores de quadrado médio) intervalo entre as coletas dos 34 aos 45 dias após emergência.....	46
<b>Tabela 42.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes as taxas de crescimento (valores de quadrado médio) intervalo entre as coletas dos 45 aos 55 dias após emergência.....	46
<b>Tabela 43.</b> Área foliar, massa de parte aérea, massa de raiz, massa total, massa de nódulos, massa de 1 nódulo, número de nódulos, massa de vagem, atividade das enzimas nitrato redutase e nitrogenase e nitrogenase específica de plantas de feijoeiro, originadas de sementes com alto teor de Mo que foram inoculadas com adição de molibdênio no solo aos 20, 34, 45 e 55 dias após emergência.....	47

<b>Tabela 44.</b> Teor de N na folha, caule, raiz, nódulo, vagem e conteúdo de N na parte aérea, raiz, nódulo e vagem de plantas de feijoeiro, originadas de sementes com alto teor de Mo que foram inoculadas com adição de molibdênio no solo aos 20, 34, 45 e 55 dias após emergência. ....	48
<b>Tabela 45.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao acúmulo de biomassa de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 38 dias após emergência.....	49
<b>Tabela 46.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes a massa de folhas senescentes, numero de nódulos, massa total, atividade das enzimas nitrato redutase, nitrogenase e nitrogenase específica (valores de quadrado médio) aos 38 dias após emergência.....	49
<b>Tabela 47.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao teor de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 38 dias após emergência. ....	49
<b>Tabela 48.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao conteúdo de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 38 dias após emergência. ....	49
<b>Tabela 49.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao acúmulo de biomassa de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 51 dias após emergência.....	50
<b>Tabela 50.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao número de nódulos, massa de folhas senescentes, massa de vagem, massa total, atividade das enzimas nitrato redutase, nitrogenase e nitrogenase específica (valores de quadrado médio) aos 51 dias após emergência. ....	50
<b>Tabela 51.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao teor de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 51 dias após emergência. ....	50
<b>Tabela 52.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes ao conteúdo de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 51 dias após emergência. ....	50
<b>Tabela 53.</b> Resumo da análise de variância dos dados referentes à floração das plantas (valores de quadrado médio). ....	51
<b>Tabela 54.</b> Resumo da análise de variância da contribuição da FBN para o N acumulado nas folhas (valores de quadrado médio) aos 38 e 51 dias após emergência (DAE). ....	51

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>2</b>
2.1. A cultura do feijão .....	2
2.2. Fixação biológica de nitrogênio e sua importância no feijoeiro .....	3
2.3. Molibdênio e sua importância no feijoeiro .....	5
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>7</b>
3.1. Condições experimentais .....	7
3.2. Instalação e condução dos experimentos .....	8
3.3. Determinações .....	10
3.4. Análises estatísticas .....	11
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>12</b>
4.1. Ensaio preliminar .....	12
4.2. Experimento 1 .....	15
4.3. Experimento 2 .....	24
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>31</b>
5.1. Acumulação de biomassa .....	31
5.2. Atividade das enzimas .....	32
5.3. Acumulação de N .....	33
5.4. Contribuição da FBN .....	33
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>34</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>35</b>
<b>8. ANEXOS .....</b>	<b>42</b>

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa de extrema importância na dieta da população brasileira, por constituir uma excelente fonte protéica, além de possuir bom conteúdo de carboidratos e ser rico em ferro (Vieira et al., 2006). O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial de feijão, produzindo 3,5 milhões de toneladas na safra 2008/2009 em uma área cultivada de 4,1 milhões de hectares, o que resulta em uma produtividade média de 838 kg ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2009).

Segundo Vieira et al. (2006), a maior parte da produção de feijão ainda é obtida por pequenos agricultores, que geralmente não dispõem de recursos para utilização de fertilizantes necessários para a cultura, gerando deficiências nutricionais e resultando em baixos rendimentos médios. Devido ao alto custo dos fertilizantes nitrogenados (70% dos custos dos fertilizantes), o Brasil aplica em média a mais baixa dose de N fertilizante no mundo (Döbereiner, 1997). Neste contexto, se torna necessário o desenvolvimento de pesquisas que venham a contribuir com a cadeia produtiva do feijão no Brasil, através da melhoria de sua nutrição nitrogenada.

O feijoeiro pode obter o N através do processo da fixação biológica de N<sub>2</sub> atmosférico (FBN), além das fontes comuns do solo através dos adubos nitrogenados e da decomposição de matéria orgânica. A FBN consiste na transformação biológica do N<sub>2</sub> atmosférico em amônia (NH<sub>3</sub>), sendo realizada principalmente por bactérias diazotróficas, de vida livre ou em associação com plantas, em especial as leguminosas. Entretanto, as respostas do feijoeiro à inoculação com bactérias do grupo dos rizóbios em condições de campo têm se mostrado variáveis, o que tem dificultado a substituição da adubação mineral pela simbiose (Hungria et al., 2003). Mesmo que a inoculação não seja suficiente para suprir todo o N requerido para o desenvolvimento da planta, e seja necessária a realização de adubações nitrogenadas em cobertura, a redução da adubação no plantio já representa uma economia a ser considerada.

O metabolismo do N pode ser afetado pela deficiência de molibdênio (Mo), pois este micronutriente faz parte da composição das enzimas nitrato redutase, responsável pela assimilação do N do solo, e da nitrogenase, responsável pela fixação biológica do N<sub>2</sub> pelo rizóbio (Taiz & Zeiger, 2004). Sementes com elevadas concentrações de Mo podem fornecer quantidades do nutriente suficientes para garantir um adequado crescimento às plantas sem adição suplementar de Mo ao solo (Jacob-Neto & Rossetto, 1998). A adubação foliar constitui uma alternativa para elevar o teor desse nutriente na semente, pois o Mo aplicado via foliar é prontamente absorvido pelas folhas e transportado para outras partes da planta em curto período de tempo (Brodrick & Giller, 1991). A adubação foliar em estágios reprodutivos de crescimento propiciou a produção de sementes de feijoeiro com maiores teores de P e de Mo (Kubota, 2006). Kubota et al. (2008) observaram que sementes com alto teor de Mo aumentaram a acumulação de biomassa e de N no feijoeiro, mas reduziram o número de nódulos. Isto suscita a hipótese de que a maior acumulação de N de feijoeiro oriundo de sementes enriquecidas com Mo possa ser consequência de uma maior assimilação do N absorvido do solo, reduzindo-se a contribuição da FBN (Kubota et al., 2008).

A contribuição da FBN pode ser quantificada pela técnica de diluição isotópica de <sup>15</sup>N, onde é necessário cultivar a planta “fixadora de N<sub>2</sub>” num solo onde o N mineral disponível seja marcado com <sup>15</sup>N (Boddey et al., 1994). Se o enriquecimento de <sup>15</sup>N do N que a planta absorve do solo é conhecido, seja através da análise do enriquecimento de <sup>15</sup>N do N mineral ou de plantas-controles não fixadoras, a quantidade de N não marcado

derivado do ar, via FBN, será proporcional à diluição do enriquecimento de  $^{15}\text{N}$  do N marcado extraído do solo (Boddey et al., 1994).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do teor de Mo em sementes de feijoeiro da cultivar Carioca, na assimilação do N do solo e na fixação biológica do  $\text{N}_2$  atmosférico, através da mensuração das atividades das enzimas nitrogenase e da nitrato redutase, e da contribuição da FBN através da diluição isotópica de  $^{15}\text{N}$ , em diferentes estádios de desenvolvimento vegetal.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. A cultura do feijão

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) teve seu centro de origem no Novo Mundo, e atualmente é encontrado em todos continentes, sendo explorado por vários povos de diferentes hábitos alimentares e em diferentes sistemas de produção. Segundo Zimmermann & Teixeira (1996), *P. vulgaris* é a espécie mais importante e a mais cultivada dentre as quatro espécies do gênero, com grande distribuição e utilização. As outras espécies são o *P. coccineus*, adaptado as áreas úmidas, o *P. acutifolius*, às áreas quentes e secas e *P. lunatus*, ao trópico úmido (Zimmermann & Teixeira, 1996).

Levando em consideração todos os gêneros e espécies de feijão, a produção mundial de feijão em 2007 atingiu 18,3 milhões de toneladas, ocupando uma área de 26,5 milhões de hectares (FAO, 2009). O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial de feijão, produzindo na safra 2008/2009 aproximadamente 3,5 milhões de toneladas, em uma área cultivada de 4,1 milhões de hectares, o que resulta em uma produtividade média de 838 kg ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2009), considerada baixa pelo potencial produtivo da espécie.

O feijoeiro é uma leguminosa com elevado teor de proteína no grão e de grande importância na alimentação da população, principalmente em alguns países onde a fonte de proteína animal representa alto custo e não é suficiente para atender toda a demanda. No Brasil, o feijão é um produto que se destaca pela sua importância nutricional, econômica e social. Sua produção sempre esteve concentrada nas mãos de pequenos agricultores, mas nos últimos 20 anos produtores que fazem uso de tecnologias mais avançadas estão buscando o cultivo dessa leguminosa (Yokoyama, 2003). No entanto, sua produção apresenta uma série de problemas que se refletem na instabilidade de produção e de produtividade, como a baixa rentabilidade para o produtor e a oferta de preços razoáveis ao consumidor.

Na escolha da variedade a ser cultivada, deve ser levada em consideração as características da região. O feijão do tipo carioca, até a década de 1970, possuía um mercado muito restrito no país, mas atualmente é o tipo mais cultivado e consumido no Brasil (Bulisani, 2008). Possui cor creme com rajas marrons, de hábito de crescimento indeterminado, ciclo de aproximadamente 90 dias, apresenta boa adaptação em diferentes tipos de solos e boa produtividade em solos com baixa fertilidade (Almeida et al., 1971). Os programas de melhoramento obtiveram, nos últimos anos, inúmeras cultivares com esse tipo de grão, sendo a maioria apresentando vantagens em termos de produtividade e resistência a doenças, em relação à cultivar Carioca original. No entanto, a aceitação foi pequena, devido à cor e ao tamanho do grão não apresentar padrão comercial desejável (Vieira et al., 2006). O feijão carioca está completando 40 anos de cultivo no Brasil,

ocupando mais de 85% do mercado nacional, seguido pelo feijão preto com 10% das vendas e 5% dos demais tipos de grão (Carbonell, 2009).

## 2.2. Fixação biológica de nitrogênio e sua importância no feijoeiro

O feijão pode obter o N através do processo da fixação biológica do N<sub>2</sub> atmosférico, além das fontes comuns do solo através da decomposição de matéria orgânica e de adubos nitrogenados. Mesmo sendo uma cultura de ciclo curto, necessita de quantidades elevadas de N (Nicoloso & Santos, 1990). O N é um dos elementos mais importantes na nutrição do feijoeiro, pois é constituinte básico da clorofila, dos aminoácidos, das proteínas dos ácidos nucleicos e outros compostos importantes no metabolismo da planta (Nicoloso & Santos, 1990; Pires et al., 2005).

A fixação biológica do nitrogênio (FBN) consiste na transformação biológica do nitrogênio atmosférico (N<sub>2</sub>) em amônia (NH<sub>3</sub>), sendo realizada principalmente por bactérias do gênero *Rhizobium* especializadas de vida livres ou em associação com plantas, em especial as leguminosas. A simbiose entre plantas leguminosas e bactérias se caracteriza pela formação de uma estrutura especializada, denominada nódulo. No interior do nódulo é sintetizado um complexo enzimático denominado nitrogenase, que faz a quebra da tríplice ligação do N<sub>2</sub>, formando duas moléculas de amônia (NH<sub>3</sub>).

Há um conceito geral de que o feijoeiro possui baixa capacidade de FBN, pois, segundo dados experimentais de produtividade tanto a nível nacional quanto internacional, fica comprovada a baixa capacidade da planta em atingir seu potencial produtivo quando dependente apenas da FBN (Straliotto & Rumjanek, 1999).

Alguns fatores limitam a FBN no feijoeiro, dentre eles a existência diversificada de rizóbios nativos nos solos, que embora formem nódulos e contribuam com a FBN, podem dificultar a introdução de estirpes mais eficientes, acarretando uma variabilidade da resposta à inoculação (Mercante et al., 1992; Ferreira et al., 2000; Fernandes Júnior & Reis, 2008). Várias espécies de rizóbio são capazes de nodular o feijoeiro, incluindo o *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*, *R. tropici*, *R. gallicum*, *R. giardinii* e *R. etli* (Amarger et al., 1997; Chueire, 2000). A maioria dos rizóbios isolados nos solos brasileiros pertence à espécie *R. tropici*, que suporta melhor as condições de estresse como as altas temperaturas e acidez do solo, além de predominar sobre a população de rizóbios nativos do solo (Hungria et al., 2000).

Um dos grandes desafios para a cultura do feijão é o desenvolvimento de um manejo adequado da simbiose, visando aumentar a eficiência da FBN. De acordo com Mercante et al. (1992), apesar do potencial de fixação de N<sub>2</sub> pelo feijoeiro ser baixo, resultados estimam que cultivares com ciclo de 80 e 90 dias, quando bem noduladas e em condições favoráveis, podem apresentar taxa de fixação superiores a 40 kg ha<sup>-1</sup> de N.

Segundo Pessoa (1998), a utilização da inoculação no feijoeiro é uma prática bastante limitada, pois nem sempre têm sido obtidas respostas positivas, principalmente em decorrência da baixa eficiência dos inoculantes usados ou do manejo inadequado das adubações. Mesmo que essa alternativa não seja suficiente para suprir todo o N requerido para o desenvolvimento da planta, e seja necessária a realização de adubações nitrogenadas em cobertura, a redução da adubação no plantio já representa uma economia a ser considerada.

O Brasil aplica em média a mais baixa dose de N fertilizante no mundo, principalmente pelos altos preços dos fertilizantes, proporcionando uma economia na agricultura e também uma redução do problema de poluição ambiental (Döbereiner, 1997).

Em virtude desse fato, torna-se de grande interesse o desenvolvimento de novas tecnologias que possam maximizar a FBN na cultura do feijoeiro (Silva et al., 2009).

A soja é um exemplo de uma leguminosa cujo sucesso no Brasil se deve a um programa de melhoramento direcionado à obtenção de cultivares com alta produção sem adubação nitrogenada e ao desenvolvimento em paralelo de inoculantes contendo rizóbios adaptados às condições e solos brasileiros (Döbereiner, 1990). Mas esse sucesso não se estendeu para a cultura do feijoeiro (Fernandes Júnior & Reis, 2008). Desta forma, são necessárias pesquisas desenvolvidas para recomendar novas estirpes eficientes capazes de competir com as estirpes nativas do solo e mais adaptadas às condições tropicais (Fernandes Júnior & Reis, 2008).

Nas leguminosas, a FBN tem início somente quando a planta passa a fornecer energia para que as bactérias possam entrar em atividade, fornecendo N necessário para a planta. No feijoeiro esses sinais são em torno de 15-20 dias após a germinação (Mercante et al., 1992).

Döbereiner et al. (1966) observaram correlação positiva entre a quantidade de nódulos e a quantidade de N acumulado em feijoeiro em casa de vegetação, quando efetuada a calagem no solo. Segundo Franco & Döbereiner (1967), a aplicação de 84 kg ha<sup>-1</sup> de N (1/2 no plantio e 1/2 em cobertura) agiu de forma diferenciada na simbiose das variedades estudadas, inibindo a nodulação da cultivar Rico 23 e não afetando as outras três cultivares.

Estudando a interferência do cálcio e do nitrogênio na FBN em duas variedades de feijoeiro, Franco & Döbereiner (1968) constataram que, para uma mesma dosagem de N, a nodulação variou com a cultivar e com os níveis de cálcio empregado. Guss & Döbereiner (1972) observaram que a aplicação de pequenas doses de N aos 20 dias após o plantio não prejudicou o início da nodulação e seu desenvolvimento. Guareschi et al. (2009), utilizando sementes de feijoeiro da cultivar Pérola inoculada com *R. tropici*, constataram boa nodulação tanto na ausência como na presença de 10 kg de N ha<sup>-1</sup> na semeadura, porém a aplicação de 80 kg de N ha<sup>-1</sup> aos 18 dias após emergência reduziu a nodulação.

No entanto, Pelegrin et al. (2009) verificaram tendência na redução do número e do peso dos nódulos com o aumento da dose de N aplicada na cultivar Pérola. Esse efeito negativo da adubação nitrogenada na nodulação também foi observado por Ferreira et al. (2000), na cultivar IAC Carioca.

Duque et al. (1985) observaram que a nodulação de quatro cultivares não inoculadas foi pobre. Porém quando inoculadas, as cultivares Carioca e Negro Argel apresentaram boa nodulação, ao contrário das cultivares Venezuela-350 e Rio Tibagi que apresentaram pequena resposta à inoculação.

Kumarasinghe et al. (1992) observaram que as altas taxas de assimilação de N<sub>2</sub> ocorreram no período de enchimento das vagens, época de maior demanda de N pela planta. Avaliando a contribuição da FBN utilizando a técnica de diluição isotópica de <sup>15</sup>N em experimento de campo, Ruschel et al. (1982) observaram que as cultivares de ciclo de 90 dias apresentaram uma contribuição média de 62% da FBN, enquanto que a cultivar Goiano Precoce de 60 dias apresentou 40%, quando receberam 20 kg N ha<sup>-1</sup>. Rennie & Kemp (1983) observaram uma contribuição média da FBN de 51,8% em cultivares de feijoeiro que receberam 10 kg N ha<sup>-1</sup>, enquanto que para a dose 40 kg N ha<sup>-1</sup> a contribuição da FBN se reduziu para 40,7%.

Boddey et al. (1996), avaliando dois genótipos de feijoeiro (ciclo curto e médio) em duas doses de N (10 e 40 kg N ha<sup>-1</sup>), mensuraram que a contribuição da FBN em duas épocas de colheita, aos 55 e 62 DAE, foi de 20 e 30% respectivamente para o genótipo de ciclo curto quando utilizaram 10 kg N ha<sup>-1</sup>, enquanto a contribuição para o genótipo de ciclo médio foi de 38 e 30% para as duas épocas de coleta, respectivamente. Quando

aplicado 40 kg N ha<sup>-1</sup>, tanto o genótipo de ciclo curto quanto o de ciclo médio apresentaram contribuições da FBN negativas (Boddey et al., 1996). Kipe-Nolt & Giller (1993), em experimento com diferentes linhagens de feijão, constataram que a contribuição da FBN variou entre 32 e 47% aos 56 dias após o plantio, utilizando 10 kg N ha<sup>-1</sup>.

Em experimento de vasos utilizando a cultivar Carioca, Chagas (2008) constatou uma contribuição da fixação biológica de N de 68,7% nas plantas que foram inoculadas, enquanto que nas plantas não inoculadas este valor foi de 63%.

### 2.3. Molibdênio e sua importância no feijoeiro

O molibdênio (Mo) é um micronutriente exigido em menor quantidade para o desenvolvimento das plantas, no entanto, sua deficiência é tão prejudicial quanto a falta de um macronutriente, influenciando no metabolismo do N (Taiz & Zeiger, 2004).

O teor de Mo total no solo encontra-se na faixa de 0,5 a 5,0 mg kg<sup>-1</sup>, onde ocorre nas seguintes fases: solução do solo, adsorvido na fração coloidal, retido na rede cristalina dos minerais primários e imobilizado pela matéria orgânica (Gupta & Lipset, 1981). Diversos fatores podem interferir na disponibilidade de Mo nos solos, entre eles o pH, a matéria orgânica, a textura, os óxidos de ferro e de alumínio, o potencial redox e a interação com outros nutrientes (Santos, 1991). O Mo é facilmente liberado dos minerais primários pela intemperização. Comparado com os outros micronutrientes, ele permanece relativamente móvel como molibdatos potencialmente solúveis (Bolland & Backer, 2000). Todavia, esses molibdatos são adsorvidos nas superfícies de minerais primários e da fração coloidal, fazendo com que a disponibilidade de Mo no solo seja dependente do pH (Bolland & Backer, 2000).

O Mo participa como componente da enzima nitrogenase, que é responsável pela quebra da tripla ligação do N<sub>2</sub>, formando amônia (NH<sub>3</sub>) no processo de FBN, e também participa do complexo enzimático da nitrato redutase, que faz a redução do nitrato a nitrito no processo de assimilação do N do solo (Taiz & Zeiger, 2004). A participação desse micronutriente está ligada com o transporte de elétrons durante as reações bioquímicas nesses processos. A deficiência de Mo resulta em menor atividade das enzimas e conseqüentemente, na redução da FBN e na assimilação do N (Taiz & Zeiger, 2004).

A nitrogenase é formada por dois componentes distintos, a Fe-proteína e a MoFe-proteína, que se combinam para reduzir o N<sub>2</sub> a NH<sub>3</sub> (Taiz & Zeiger, 2004). O primeiro componente é uma proteína que apresenta duas subunidades de 30 a 72 k daltons cada, e o segundo componente apresenta quatro subunidades, com massa molecular entre 180 e 235 k daltons cada. Na reação geral de redução do N<sub>2</sub>, a ferredoxina atua como doador de elétrons para a Fe-proteína, que por sua vez hidroliza ATP e reduz a MoFe-proteína. A MoFe-proteína pode então reduzir inúmeros substratos, embora em condições naturais ela reaja somente com N<sub>2</sub> e H<sup>+</sup> (Taiz & Zeiger, 2004). Em condições de baixa disponibilidade, o Mo se concentra mais nos nódulos do que nas demais partes da planta, de forma a manter concentrações adequadas para a fixação de N<sub>2</sub> (Jacob-Neto & Franco, 1989; Brodrick & Giller, 1991).

A enzima nitrato redutase é de extrema importância no metabolismo vegetal, pois faz a assimilação do nitrato absorvido do solo. Essa enzima contém o Mo como grupo prostético e atua nesse complexo enzimático no transporte de elétrons. A deficiência desse micronutriente pode levar ao acúmulo de nitrato na folha, devido a não ativação dessa enzima (Ferreira et al., 2003a).

Franco et al. (1979) observaram em experimento de campo que a atividade da enzima nitrogenase em feijoeiro foi muito baixa durante as duas semanas após o plantio, alcançando um aumento na floração e declinando rapidamente após esse período, enquanto que a atividade da nitrato redutase foi maior no período de formação da vagem e enchimento de grãos. Isto indica que a nitrato redutase desempenha um papel fundamental na incorporação do N durante os estágios pós-floração e que plantas de feijoeiro se beneficiam tanto da assimilação do nitrato quanto da fixação de N<sub>2</sub> em diferentes estágios do desenvolvimento da planta (Franco et al., 1979). A assimilação de nitrato do solo no período de baixa atividade da enzima nitrogenase, pode contribuir para a economia de N das plantas (Neves et al., 1982).

Hungria et al. (1985) observaram uma redução da atividade da nitrato redutase antes do florescimento em duas cultivares de feijoeiro em casa de vegetação, sendo as avaliações efetuadas com as folhas em todo perfil da planta (do ápice a base). Já Franco et al. (1979) consideraram apenas a atividade da nitrato redutase das folhas superiores expandidas. Silveira et al. (2001), avaliando a atividade da nitrato redutase em diferentes partes da planta de feijoeiro, observou uma maior atividade nas folhas quando comparada com os nódulos e raízes.

Hungria & Neves (1986), avaliando a ontogenia da FBN em feijoeiro em condições de casa de vegetação, constataram que a maior atividade da nitrogenase ocorreu entre o florescimento e enchimento do grão, ocasionando o acúmulo de N nas sementes. Segundo Neves et al. (1982), a atividade da nitrogenase na cultura do feijão inicia-se aproximadamente a partir de 14 dias após a semeadura (DAS), com aumentos progressivos até atingir o pico de atividade aos 20 DAS e a partir dessa fase ocorre decréscimo na atividade dessa enzima, sendo a menor atividade observada aos 42 DAS.

Sementes de boa qualidade podem contribuir com o aumento da produtividade de uma cultura (Bragantini, 1996). Em solos que apresentam pouca disponibilidade de nutriente, uma semente com alto conteúdo de um elemento poderá originar uma planta vigorosa, em meio deficiente nesse elemento (Carvalho & Nakagawa, 1988). Sementes enriquecidas podem aumentar a disponibilidade de nutriente para a plântula nos estágios iniciais de desenvolvimento e em alguns casos, especialmente para micronutrientes como Mo, a reserva interna da semente pode fornecer quantidades suficientes para que a planta possa crescer sem adição suplementar de Mo ao solo (Jacob-Neto, 1985; Jacob-Neto & Franco, 1986; Jacob-Neto & Rossetto, 1998).

Segundo Teixeira & Araújo (1999), o aumento das doses de adubo no solo para obter sementes de feijão enriquecidas com P e Mo pode aumentar o custo de produção de sementes, em virtude da elevada adsorção destes elementos nos solos tropicais. Jacob-Neto (1985) verificou que a melhor forma de acumular Mo nas sementes seria através da adubação foliar, em comparação com a adubação com Mo no solo. Segundo Jacob-Neto & Franco (1986), a adubação foliar pode ser recomendada para produtores de sementes que estariam ofertando sementes com conteúdos adequados de Mo.

Segundo Pessoa et al. (2000), a adubação foliar com Mo apresenta custos extremamente reduzidos além de fácil e rápida aplicação. A aplicação foliar nos estágios iniciais do desenvolvimento proporcionou plantas mais verdes, vigorosas, com maior formação de órgãos florais, senescência mais tardias das folhas, proporcionando maior período de enchimento dos grãos, podendo esse comportamento ser atribuído à maior atividade da enzima nitrato redutase (Pires, 2003).

Segundo Ferreira et al. (2003b) e Nascimento et al. (2004), a adubação foliar com Mo aumentou o teor de N na folha, melhorando o estado nutricional do feijoeiro. Pessoa et al. (2000) também observaram maiores teores de N na folha e no grão em plantas de feijoeiro que receberam adubação foliar com Mo aos 25 DAE. Pessoa et al. (2001)

verificaram acréscimo na produtividade do feijoeiro “Ouro Negro” com aplicação foliar de Mo, e essa maior produtividade foi relacionada com o aumento da atividade da nitrogenase, e com aumento da atividade da nitrato redutase, que permitiu melhor utilização do nitrato absorvido pelas plantas.

Meireles et al. (2003) estudaram a época de aplicação e do parcelamento da dose de Mo via aplicação foliar e constataram que a aplicação de 80 g Mo ha<sup>-1</sup>, entre os 15 e 30 DAE, proporcionou melhores respostas na qualidade fisiológica da semente. Pires et al. (2004) observaram que em cultivo de verão-outono a aplicação foliar de 80 g Mo ha<sup>-1</sup> parcelado entre 15 e 30 DAE aumentou em 118% o teor de Mo na semente. Já no cultivo inverno-primavera o maior acúmulo de Mo pelas sementes foi obtido quando o nutriente foi aplicado de forma parcelada e em estádios mais tardios de desenvolvimento.

Jacob-Neto & Franco (1986), usando sementes com níveis crescentes de Mo, mostraram que um conteúdo de Mo em torno de 3,5 µg Mo semente<sup>-1</sup> foi suficiente para que o feijoeiro dependente da FBN se desenvolvesse e atingisse acumulação máxima de N sem adubação complementar com Mo. Este conteúdo de Mo na semente foi atingido com aplicação foliar de 200 g ha<sup>-1</sup> mesmo com as plantas crescendo em solos com baixa disponibilidade de Mo. Os conteúdos de Mo em sementes de feijão variaram entre 0,6 e 6,4 µg semente<sup>-1</sup>, em plantas crescidas em solo pobre e rico em Mo, respectivamente, indicando grandes variações na acumulação de Mo em função do tipo de solo (Brodrick et al., 1995). Plantas de feijoeiro originadas de sementes com alto teor de Mo absorveram muito pouco Mo do solo durante seu crescimento (Brodrick et al., 1992), e mantiveram a atividade da nitrogenase similar as das plantas que receberam Mo nas raízes (Brodrick & Giller, 1991).

Ferreira et al. (2003b) utilizaram vários lotes de sementes com diferentes teores de Mo combinados com diferentes doses de Mo aplicado via foliar e concluíram que a produtividade não foi influenciada pelo teor desse micronutriente na semente, ao contrário da adubação foliar realizada aos 25 DAE com a dose de 83,9 g ha<sup>-1</sup> de Mo, que aumentou em 41% a produtividade de grãos.

O enriquecimento de semente é uma técnica nova e pouco estudada, diante desse fato pouco se sabe sobre a eficiência de sementes enriquecidas com Mo na nodulação das plantas originadas de sementes enriquecidas (Milani et al., 2008).

Chagas (2008) constatou que sob maior teor de P no solo, o maior teor de Mo da semente diminuiu a massa de nódulos aos 41 DAE em plantas de feijão que receberam inoculação ou uréia, e Kubota et al. (2008) observaram que plantas da cultivar Carioca originadas de sementes com maior teor de Mo, tiveram redução no número de nódulos aos 30 DAE, entretanto apresentaram atividade da nitrogenase superior às plantas originadas de sementes com baixo teor de Mo. Sementes com alto teor de Mo aumentaram o acúmulo de massa e de N da parte aérea do feijoeiro (Kubota et al., 2008).

Apesar dos bons resultados com a aplicação de Mo, poucos agricultores fazem uso desse micronutriente na adubação, devido à falta de informação e disponibilidade do adubo molíbdico no mercado (Vieira et al., 2008). A produção de sementes com alto conteúdo de Mo pode contribuir com o acréscimo da produtividade do feijoeiro no Brasil.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Condições experimentais

Foram conduzidos um ensaio preliminar e dois experimentos em vasos, na EMBRAPA Agrobiologia, município de Seropédica-RJ. O ensaio foi conduzido entre os

meses de maio a julho de 2008, o experimento 1 entre agosto e outubro de 2008 e o experimento 2 entre maio e julho de 2009. As sementes da cultivar Carioca utilizadas no ensaio e nos dois experimentos foram obtidas em um experimento de campo no ano de 2004 na EMBRAPA Gado de Leite (município de Valença-RJ), quando foram feitas duas adubações foliares com 120 g Mo ha<sup>-1</sup>, aos 52 e 71 dias após emergência (DAE) (Kubota, 2006).

Para o presente trabalho, foram selecionadas sementes com teores contrastantes de Mo, originadas de plantas que receberam ou não adubação foliar com Mo. Amostras destas sementes foram secas em estufa e moídas. Um grama de material vegetal foi mineralizado por digestão nítrico-perclórica. Nos extratos foi determinado o teor de Mo no Laboratório de Análises de Solos e Plantas do Centro Nacional de Pesquisa em Solos da EMBRAPA (EMBRAPA Solos), em aparelho ICP-EAS, marca Perkin-Elmer. As características das sementes utilizadas estão apresentadas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Teores de Mo e massa de 100 sementes, das sementes da cultivar Carioca utilizada nos dois experimentos de vaso.

Mo na semente	Massa de 100 sementes (g)	Teor de Mo (µg kg <sup>-1</sup> )
Baixo Mo	31,52	55,5
Alto Mo	31,85	10950

No ensaio foi utilizado um delineamento experimental em blocos ao acaso em esquema fatorial 2x3 com duas repetições, entre dois teores de Mo na semente (baixo e alto teor de Mo na semente) e três fontes de N (sem N, inoculado e N mineral), totalizando 12 vasos. A coleta foi efetuada aos 42 DAE. No experimento 1 foi adotado um delineamento experimental em blocos ao acaso com cinco repetições, em um arranjo fatorial 2x2x4 entre dois teores de Mo na semente (baixo e alto teor de Mo na semente), duas fontes de N (inoculado e N mineral), com quatro épocas de coleta (aos 20, 34, 45 e 55 DAE), totalizando 80 vasos. Além disto, foi incluído um tratamento extra, com sementes com alto teor de Mo, inoculação e adição de Mo ao solo, com quatro coletas e cinco repetições, totalizando 20 vasos.

O experimento 2 foi composto de um delineamento experimental em bloco ao acaso em arranjo fatorial 2x2x2, entre dois teores de Mo na semente (baixo e alto teor de Mo na semente), duas fontes de N (inoculado e N mineral) e duas épocas de coleta (aos 38 e 51 DAE), totalizando 40 vasos. Como plantas controle, foram utilizadas o genótipo de feijoeiro não nodulante NORH-54, girassol cultivar IAC Uruguai e o sorgo cultivar BR-501, com duas repetições por espécie, totalizando 6 vasos.

### 3.2. Instalação e condução dos experimentos

O substrato utilizado no ensaio e nos dois experimentos foi um Argissolo série Itaguaí coletado na profundidade de 0 a 20 cm, passado em peneira de malha de 6 mm e colocado em vasos de 10 kg. Foi feita a caracterização química do solo conforme metodologia da Embrapa (1997), que apresentou as seguintes características: no

experimento 1 pH em água 5,3, 0,0 cmol<sub>c</sub> Al dm<sup>-3</sup>, 5,0 cmol<sub>c</sub> Ca dm<sup>-3</sup>, 3,0 cmol<sub>c</sub> Mg dm<sup>-3</sup>, 20 mg K dm<sup>-3</sup>, 11 mg P dm<sup>-3</sup>, 1,32 % de C orgânico, 2,27 % de matéria orgânica; e no experimento 2 pH em água 5,2, 0,1 cmol<sub>c</sub> Al dm<sup>-3</sup>, 1,7 cmol<sub>c</sub> Ca dm<sup>-3</sup>, 1,6 cmol<sub>c</sub> Mg dm<sup>-3</sup>, 33 mg K dm<sup>-3</sup>, 8 mg P dm<sup>-3</sup>, 0,91 % de C orgânico e 1,56 % de matéria orgânica.

O solo de cada vaso recebeu 500 mg kg<sup>-1</sup> de CaCO<sub>3</sub>, que foi homogeneizado, sendo molhado durante três semanas para a reação do calcário. No experimento 2, o solo foi previamente adubado com 2,5 mg N kg<sup>-1</sup>, na forma de uréia enriquecida com 5% de átomos em excesso de <sup>15</sup>N, sendo o N estabilizado por 100 dias antes da aplicação do calcário. Os vasos receberam 10 mg Mg kg<sup>-1</sup> como MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 2 mg Cu kg<sup>-1</sup> como CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, 1 mg Zn kg<sup>-1</sup> como ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,05 mg B kg<sup>-1</sup> como H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 80 mg P kg<sup>-1</sup> como KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, e 30 e 60 mg N kg<sup>-1</sup> como (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, respectivamente, nos tratamentos inoculados e com N mineral. O tratamento extra no experimento 1 recebeu 0,5 mg Mo kg<sup>-1</sup> como (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.2 H<sub>2</sub>O.

Os nutrientes foram aplicados lentamente sobre os vasos diluídos em água, e posteriormente o material de cada vaso foi homogeneizado. O solo do experimento 2 apresentou no plantio pH em água 5,3, 2,6 cmol<sub>c</sub> Ca dm<sup>-3</sup>, 2,4 cmol<sub>c</sub> Mg dm<sup>-3</sup>, 0,1 cmol<sub>c</sub> Al dm<sup>-3</sup>, 192 mg K dm<sup>-3</sup>, 36 mg P dm<sup>-3</sup>, 1,03% de C orgânico e 1,77 % de matéria orgânica. Os tratamentos com N mineral receberam duas aplicações em cobertura de 30 mg N kg<sup>-1</sup> como (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, realizadas aos 22 e 35 DAE no ensaio, aos 23 e 37 DAE no experimento 1 e aos 24 e 41 DAE no experimento 2.

Transcorridos oito dias da aplicação dos fertilizantes, foram semeadas seis sementes por vaso, e aos 10 DAE foi realizado um desbaste deixando-se três plantas por vaso. Nos tratamentos com fonte de N inoculada, cada semente recebeu 1 mL de inoculante líquido contendo as estirpes BR 322 e BR 520 de *Rhizobium tropici* da coleção da Embrapa Agrobiologia. A adubação e semeadura foram efetuadas dentro da casa de vegetação, mas antes do desbaste os vasos foram transferidos para fora da casa de vegetação e dispostos ao ar livre em uma área gramada, sobre paralelepípedos de cimento (Figura 1).



**Figura 1. Visão geral do experimento 2.**

### **3.3. Determinações**

O início da floração foi determinado através de observações diárias, considerando-se como a data de floração quando as três plantas do vaso possuíam ao menos uma flor completamente aberta.

Em cada época de coleta, foi determinada a atividade da enzima nitrato redutase segundo Jaworski (1971). No período da manhã, foram coletadas folhas com a mesma idade fisiológica, contando a partir do ápice da planta o primeiro trifólio totalmente expandido e maduro. As folhas foram acondicionadas em recipiente plástico, colocadas em caixa de isopor com gelo e levadas rapidamente ao laboratório. Foram retirados discos feitos com um cortador de cortiça de 1 cm de diâmetro, e 200 mg de tecido vegetal foi incubado em 5 mL de solução tampão de fosfato de potássio a 0,1 M com pH 7,5 contendo 20 mM de  $\text{KNO}_3$  e 3 % (v/v) de n-propanol, numa temperatura de 30 °C em banho-maria por 1 h. Após o tempo de incubação, foi retirada uma alíquota de 0,4 mL para análise de nitrito. A coloração foi obtida por adição de 0,3 mL de sulfanilamida a 1% (p/v), em HCl a 3 M e 0,3 mL de n-naftil-etileno-diamino a 0,02% (p/v), e a absorbância foi determinada a 540 nm para conversão a nitrito através da curva padrão. E a atividade da nitrato redutase foi obtida em  $\mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1}$  de MF  $\text{h}^{-1}$ .

Em cada coleta, a parte aérea foi cortada ao nível do solo e separada em caule, folhas e vagens. No experimento 1, foi determinada a área foliar pelo medidor fotoelétrico LI-3000, LICOR. No experimento 2, as folhas senescentes de cada vaso foram coletadas diariamente, secas em estufa e pesadas.

O solo de cada vaso foi colocado em uma caixa plástica, e o sistema radicular e nódulos foram recuperados manualmente. Nos experimentos 1 e 2, nas raízes e nódulos foi determinada a atividade da enzima nitrogenase, através da técnica de redução de acetileno (Hardy et al., 1973). Os sistemas radiculares das plantas tiveram o excesso de solo retirado das raízes e colocados, juntamente com os nódulos que se desprenderam das raízes, em um frasco de vidro de 250 mL hermeticamente fechado. Em seguida foi aplicado 30 mL de

acetileno, usando uma seringa de injeção, retirando previamente este mesmo volume de ar, para não alterar a pressão. Após a incubação por 30 min, foi coletado uma amostra de 1 mL, sendo injetada 0,5 mL para leitura da concentração de etileno em cromatografia gasosa. Foi utilizado o cromatógrafo a gás modelo Perkin-Elmer L Auto System e Integrator PE Nelson Modelo 1022, com Detector de Ionização de Chama (FID - Flame Ionization Detector) e coluna cromatográfica Poropak N. O padrão de etileno foi determinado, injetando-se no cromatógrafo 1,0 mL de etileno puro. Os valores de etileno produzido foram convertidos para  $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ h}^{-1} \text{ planta}^{-1}$ , considerados como a atividade da nitrogenase. A atividade específica da nitrogenase foi calculada através da razão entre a atividade da nitrogenase e a massa seca de nódulos de cada vaso.

As raízes e nódulos foram guardados em geladeira, e posteriormente foram lavados, com separação e contagem dos nódulos. As folhas, caules, vagens, raízes e nódulos, e as folhas senescentes coletadas no experimento 2, foram colocados em estufa a 70 °C por 72 h e pesados. As folhas senescentes de cada vaso foram reunidas para moagem. Cada porção vegetal foi moída, determinando-se o teor de N pelo método semi-micro Kjeldahl (Malavolta et al., 1989). O conteúdo de N de cada porção vegetal foi obtido pelo produto entre o teor e a massa seca. O conteúdo total de N foi obtido pelo somatório do conteúdo de N de cada parte da planta.

No experimento 2, os vasos com as plantas controle (feijão não nodulante, sorgo e girassol), foram colhidos nas mesmas datas das coletas do feijão, ou seja, aos 52 e 71 DAE. A parte aérea foi cortada ao nível do solo e separada em caule e folhas, e as raízes foram recuperadas manualmente e lavadas. Cada porção vegetal foi seca em estufa e pesada.

No experimento 2, uma sub-amostra das folhas dos tratamentos que não receberam N-mineral, assim como das folhas das plantas controle, foi moída em moinho de bola. Foi determinada a composição isotópica de N, em espectrômetro de massa na Embrapa Agrobiologia (Finnigan Mat Deltaplus). A contribuição da fixação de  $\text{N}_2$  foi efetuada pela técnica da diluição isotópica, utilizando-se como cultivos de referência os genótipos controle, através da seguinte equação (Chalk, 1985):

$$\% \text{Ndfa} = [1 - (\text{atom}\% \text{ } ^{15}\text{N} \text{ excesso feijão} / \text{atom}\% \text{ } ^{15}\text{N} \text{ excesso controle})] \times 100$$

### 3.4. Análises estatísticas

No experimento 1, foi calculada a taxa de crescimento absoluto (TCA) e a taxa de assimilação líquida (TAL), através do método clássico de análise de crescimento, obtendo os valores médios das taxas para cada intervalo entre duas coletas utilizando as seguintes equações (Kvet et al., 1971):

$$\text{TCA} = \frac{W_2 - W_1}{T_2 - T_1}$$

$$\text{TAL} = \frac{W_2 - W_1}{A_2 - A_1} \cdot \frac{\ln A_2 - \ln A_1}{T_2 - T_1}$$

em que TCA é a taxa de crescimento absoluto em  $\text{g dia}^{-1}$ ; TAL a taxa de assimilação líquida em  $\text{g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ; W a biomassa acumulada pela planta inteira em  $\text{g planta}^{-1}$ ; A área foliar em  $\text{cm}^2 \text{ planta}^{-1}$ ; T o tempo em dias; e os subscritos 1 e 2 as épocas de coleta.

Os valores das taxas foram calculados para cada intervalo entre as coletas e para cada repetição.

Os dados obtidos em cada experimento foram submetidos à análise de variância para cada época de coleta isoladamente, avaliando os efeitos dos diferentes teores de Mo nas sementes, das fontes de N, e de suas interações. As médias foram comparadas através do teste Tukey a 5% de probabilidade.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Ensaio preliminar

As plantas que receberam N mineral apresentaram maior massa de folha, caule, raiz, parte aérea e total do que as plantas testemunhas ou inoculadas, na média dos diferentes níveis de Mo na semente (Tabela 2). De uma forma, geral, não houve diferenças significativa entre as plantas testemunhas ou inoculadas na massa de folha, caule, raiz, parte aérea e total, na média dos dois níveis de Mo na semente (Tabela 2). O alto teor de Mo da semente causou aumentos na massa de folha, parte aérea e total, na média das três fontes de N. Entretanto, o alto teor de Mo na semente causou redução no número de nódulos, sem afetar a massa de nódulos. Em consequência, plantas originadas de sementes com alto teor de Mo apresentaram nódulos com maior massa unitária (Tabela 2).

As plantas inoculadas apresentaram maior número de nódulos, na média dos dois níveis de Mo na semente, mas as fontes de N não modificaram significativamente a massa de nódulos (Tabela 2). Desta forma, as plantas inoculadas apresentaram nódulos de menor massa unitária, na média dos dois níveis de Mo na semente.

A atividade da nitrato redutase apresentou maiores valores nas plantas que receberam N mineral, e menores valores nas plantas inoculadas, na média dos dois níveis de Mo nas sementes (Tabela 2). O alto teor de Mo na semente aumentou a atividade da nitrato redutase, na média das três fontes de N (Tabela 2).

A expressiva nodulação nas plantas testemunhas (Tabela 2), que não receberam inoculação com as estirpes recomendadas para o feijoeiro, demonstra a grande capacidade do feijoeiro de nodular com as estirpes de rizóbio nativas do solo. Desta forma, optou-se nos experimentos seguintes desta Dissertação por não avaliar tratamentos testemunha sem inoculação, trabalhando-se apenas com tratamentos com inoculação e aplicação de N mineral.

O alto teor de Mo na semente proporcionou um aumento no teor de N na folha, caule e nódulo, na média das diferentes fontes de N, não acarretando diferença significativa no teor de N na raiz (Tabela 3). As plantas que foram inoculadas apresentaram maior teor de N no nódulo que as plantas testemunhas, porém não diferiram das plantas que receberam N mineral, na média dos dois níveis de Mo na semente. Plantas na presença do N mineral tiveram maior conteúdo de N na parte aérea, raiz e total, sem diferença entre as plantas testemunhas ou inoculadas, na média das sementes com baixo e alto Mo (Tabela 3). O alto Mo na semente aumentou o conteúdo de N na parte aérea e total da planta, na média das três fontes de N.

**Tabela 2.** Massa seca de folha, caule, parte aérea, raiz, nódulo, massa unitária de nódulo, massa total, número de nódulos e atividade da nitrato redutase de plantas de feijoeiro, originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob três fontes de N (testemunha sem N, inoculação com rizóbio e N mineral), aos 42 dias após emergência.

Fonte de N	Baixo Mo	Alto Mo	Média	Baixo Mo	Alto Mo	Média
	Massa seca de folha (g planta <sup>-1</sup> )			Massa seca de caule (g planta <sup>-1</sup> )		
Testemunha	3,83	5,81	4,82 b	1,56	2,39	1,97 b
Inoculado	3,30	6,60	4,95 b	1,74	2,69	2,21 b
N mineral	8,12	8,01	8,07 a	4,04	3,98	4,01 a
Média	5,08 B	6,80 A		2,44	3,02	
	Massa seca de raiz (g planta <sup>-1</sup> )			Massa seca de parte aérea (g planta <sup>-1</sup> )		
Testemunha	1,09	0,91	1,00 b	5,38	8,20	6,79 b
Inoculado	0,82	0,95	0,89 b	5,03	9,29	7,16 b
N mineral	2,08	1,87	1,98 a	12,16	11,99	12,07 a
Média	1,33	1,24		7,52 B	9,82 A	
	Massa seca de nódulos (mg planta <sup>-1</sup> )			Número de nódulos (planta <sup>-1</sup> )		
Testemunha	529	452	491	406	247	327 b
Inoculado	310	369	340	634	512	573 a
N mineral	276	292	284	362	95	228 b
Média	372	371		467 A	284 B	
	Massa seca de 1 nódulo ( mg)			Massa seca total (g planta <sup>-1</sup> )		
Testemunha	1,31 a	1,83 b	1,57 b	6,99	9,55	8,27 b
Inoculado	0,49 b	0,72 c	0,60 c	6,16	10,61	8,38 b
N mineral	0,78 b	3,07 a	1,93 a	14,52	14,15	14,33 a
Média	0,86 B	1,87 A		9,22 B	11,43 A	
	Nitrato redutase ( $\mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1}$ de MF $\text{h}^{-1}$ )					
Testemunha	0,19	0,41	0,30 ab			
Inoculado	0,13	0,33	0,23 b			
N mineral	0,30	0,54	0,42 a			
Média	0,21B	0,43 A				

Médias seguidas da mesma letra, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem pelo teste Tukey a 5%; ausência de letra indica diferença não significativa.

**Tabela 3.** Teor de N na folha, caule, raiz e nódulo e conteúdo de N na parte aérea, raiz, nódulo e total de plantas de feijoeiro, originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob três fontes de N (testemunha sem N, inoculação com rizóbio e N mineral), aos 42 dias após emergência.

Fonte de N	Baixo Mo	Alto Mo	Média	Baixo Mo	Alto Mo	Média
	Teor de N na folha (mg g <sup>-1</sup> )			Teor de N no caule (mg g <sup>-1</sup> )		
Testemunha	19,5	33,5	26,5	10,5	13,8	12,1
Inoculado	19,1	29,8	24,4	9,0	14,8	11,9
N mineral	19,3	25,0	22,2	11,3	13,4	12,3
Média	19,3 B	29,5 A		10,3 B	14,0 A	
	Teor de N na raiz (mg g <sup>-1</sup> )			Teor de N no nódulo (mg g <sup>-1</sup> )		
Testemunha	15,2	17,5	16,4	38,9	46,3	42,6 b
Inoculado	16,6	17,1	16,8	52,8	58,7	55,8 a
N mineral	17,7	20,5	19,1	48,1	56,5	52,3 ab
Média	16,5	18,4		46,6 B	53,8 A	
	Conteúdo de N parte aérea (mg planta <sup>-1</sup> )			Conteúdo de N na raiz (mg planta <sup>-1</sup> )		
Testemunha	91	228	160 b	16	16	16 b
Inoculado	79	238	158 b	14	16	15 b
N mineral	200	252	226 a	36	38	37 a
Média	123 B	239 A		22	23	
	Conteúdo de N no nódulo (mg planta <sup>-1</sup> )			Conteúdo de N total (mg planta <sup>-1</sup> )		
Testemunha	20	21	21	128	265	196 b
Inoculado	16	21	19	109	276	192 b
N mineral	13	16	15	249	306	278 a
Média	17	19		162 B	282 A	

Médias seguidas da mesma letra, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem pelo teste Tukey a 5%; ausência de letra indica diferença não significativa.

## 4.2. Experimento 1

Analisando a data de floração do feijoeiro, observou-se que plantas oriundas de sementes com alto teor de Mo apresentaram abertura do botão floral cerca de um dia antes que as plantas originadas de sementes com baixo Mo (Tabela 4). As fontes de N não afetaram a época de floração do feijoeiro.

**Tabela 4.** Data de floração das plantas de feijoeiro, originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral).

Fonte de N	Floração (dias após emergência)	
	Baixo Mo	Alto Mo
Inoculado	38,5 A	37,8 A
N mineral	38,5 A	37,2 B

Médias seguidas da mesma letra, maiúsculas na linha, não diferem pelo teste Tukey a 5%; ausência de letra indica diferença não significativa.

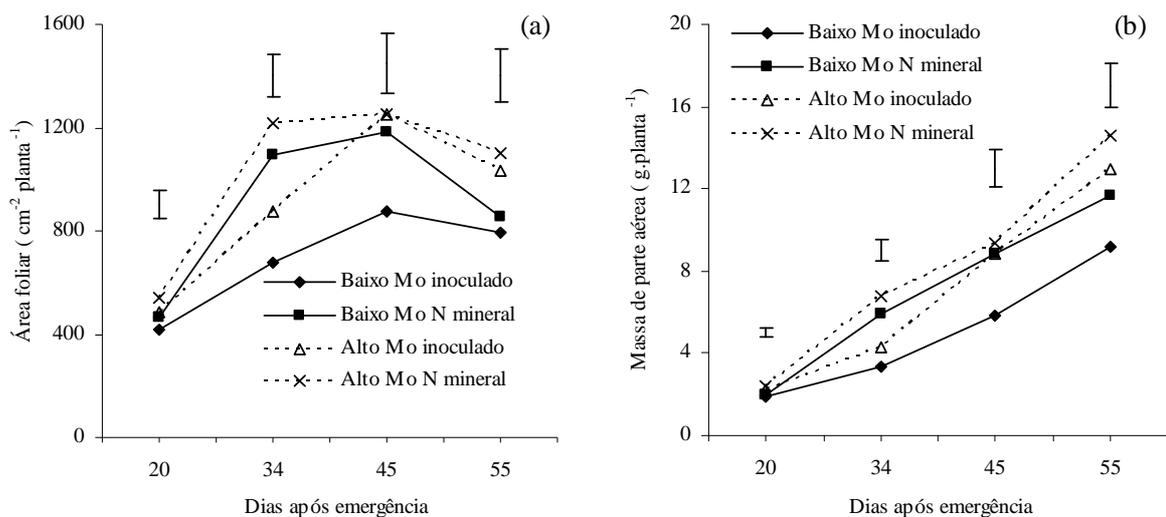
O alto teor de Mo na semente aumentou a área foliar e a massa de parte aérea nas quatro épocas de coleta, e a massa de vagem aos 55 DAE, tanto nas plantas que receberam N mineral quanto nas plantas inoculadas (Tabela 5 e Figura 2). No entanto, o alto Mo na semente aumentou a massa de raiz apenas nas plantas inoculadas aos 20 DAE (Tabela 5). As plantas que receberam N mineral apresentaram maior massa de parte aérea e raiz que as plantas inoculadas aos 34, 45 e 55 DAE, nos dois teores de Mo na semente, e conseqüentemente uma maior massa total da planta (Tabela 5).

**Tabela 5.** Área foliar, massa seca de parte aérea, massa seca de raiz, massa seca de vagem e massa seca total de plantas de feijoeiro, originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), aos 20, 34, 45 e 55 dias após emergência.

Fonte de N	20 dias após emergência		34 dias após emergência		45 dias após emergência		55 dias após emergência	
	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo
	Área foliar (cm <sup>2</sup> planta <sup>-1</sup> )							
Inoculado	420 B	488 A	679 Bb	872 Ab	873 Bb	1254 Aa	794 B	1034 A
N mineral	466 B	537 A	1092 Ba	1219 Aa	1184 Aa	1253 Aa	896 B	1103 A
	Massa seca de parte aérea (g planta <sup>-1</sup> )							
Inoculado	1,86 B	2,20 A	3,33 Bb	4,28 Ab	5,83 Bb	8,88 Aa	9,21 Bb	12,97 Ab
N mineral	1,97 B	2,41 A	5,89 Ba	6,82 Aa	8,80 Aa	9,39 Aa	12,17 Ba	14,57 Aa
	Massa seca de raiz (g planta <sup>-1</sup> )							
Inoculado	0,35 B	0,50 A	0,87 b	1,02 a	1,02 b	1,24 b	1,04 b	1,10 b
N mineral	0,42 A	0,44 A	1,30 a	1,09 a	1,59 a	1,64 a	1,63 a	1,62 a
	Massa seca de vagem (g planta <sup>-1</sup> )							
Inoculado	nd	nd	nd	nd	nd	nd	2,18 B	4,30 A
N mineral	nd	nd	nd	nd	nd	nd	2,41 B	4,49 A
	Massa seca total (g planta <sup>-1</sup> )							
Inoculado	2,22 B	2,72 A	4,48 Bb	5,60 Ab	7,35 Bb	10,62 Aa	10,60 Bb	14,25 Ab
N mineral	2,38 B	2,85 A	7,36 Aa	8,19 Aa	10,86 Aa	11,55 Aa	14,20 Ba	16,61 Aa

Médias seguidas da mesma letra, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem pelo teste Tukey a 5%; ausência de letra indica diferença não significativa, nd – não determinado.

Pôde-se observar uma tendência de aumento da área foliar até 45 DAE, seguida de um decréscimo, tanto nas plantas inoculadas quanto nas plantas que receberam N mineral (Figura 2a), indicando um processo de senescência foliar no período de enchimento de vagens. A massa de parte aérea apresentou um crescimento contínuo durante o período experimental (Figura 2b). O alto Mo nas sementes contribuiu com o aumento de massa de parte aérea assim como de área foliar aos 55 DAE (período de enchimento da vagem), tanto nas plantas inoculadas quanto nas plantas que receberam N mineral (Figura 2). No entanto, plantas que receberam N mineral nos dois teores de Mo na semente aumentaram a área foliar até aos 45 DAE (Figura 2a), contribuindo com ganho de massa de parte aérea da planta durante todo ciclo.



**Figura 2.** Área foliar (a) e massa seca de parte aérea (b) de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), em quatro épocas de avaliação. As barras verticais representam a diferença mínima significativa do teste de Tukey ao nível de 5%, e comparam os quatro tratamentos dentro de cada coleta.

As plantas originadas de sementes com alto teor de Mo, quando foram inoculadas, apresentaram maior número e massa de nódulos aos 20 DAE que as plantas originadas de sementes com baixo Mo (Tabela 6). Os efeitos do teor de Mo na semente não foram significativos aos 34, 45 e 55 DAE para número, massa de nódulos e massa unitária de nódulos, mas se observou uma tendência de redução na nodulação das plantas oriundas de sementes com alto teor de Mo aos 55 DAE (Tabela 6). Plantas que foram inoculadas apresentaram maior número de nódulos e massa unitária de nódulos aos 20 DAE que as plantas que receberam N mineral, nos dois níveis de Mo na semente, confirmando que a aplicação de N mineral inibe a nodulação. No entanto, as plantas que receberam N mineral tiveram maior massa unitária de nódulo aos 34, 45 e 55 DAE, nos dois teores de Mo na semente, ou seja, produziram nódulos maiores (Tabela 6).

**Tabela 6.** Massa seca de nódulo, massa unitária de nódulo e número de nódulos de plantas de feijoeiro, originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), aos 20, 34, 45 e 55 dias após emergência.

Fonte de N	20 dias após emergência		34 dias após emergência		45 dias após emergência		55 dias após emergência	
	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo
	Número de nódulos (planta <sup>-1</sup> )							
Inoculado	15 Ba	49 Aa	311 a	271 a	289	275	217	116
N mineral	0,33 Ab	2 Ab	143 b	206 a	234	198	174	142
	Massa seca de nódulos (mg planta <sup>-1</sup> )							
Inoculado	4 Ba	17 Aa	276	302	501	501	342 a	173 b
N mineral	0,07 Aa	1 Ab	170	267	458	518	402 a	419 a
	Massa seca de 1 nódulo (mg)							
Inoculado	305 a	395 a	914 b	1163 a	1828 b	1812 b	1707 b	1528 b
N mineral	44 b	69 b	1336 a	1355 a	2246 a	2662 a	2503 a	2996 a

Médias seguidas da mesma letra, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem pelo teste Tukey a 5%; ausência de letra indica diferença não significativa.

Sementes com alto teor de Mo aumentaram a atividade da nitrato redutase nas folhas do feijoeiro, aos 45 DAE nas plantas sob N mineral e aos 55 DAE nas plantas inoculadas (Tabela 7). A aplicação de N mineral acarretou aumento da atividade da nitrato redutase aos 34 e 45 DAE, em comparação à inoculação, nos dois teores de Mo nas sementes (Tabela 7).

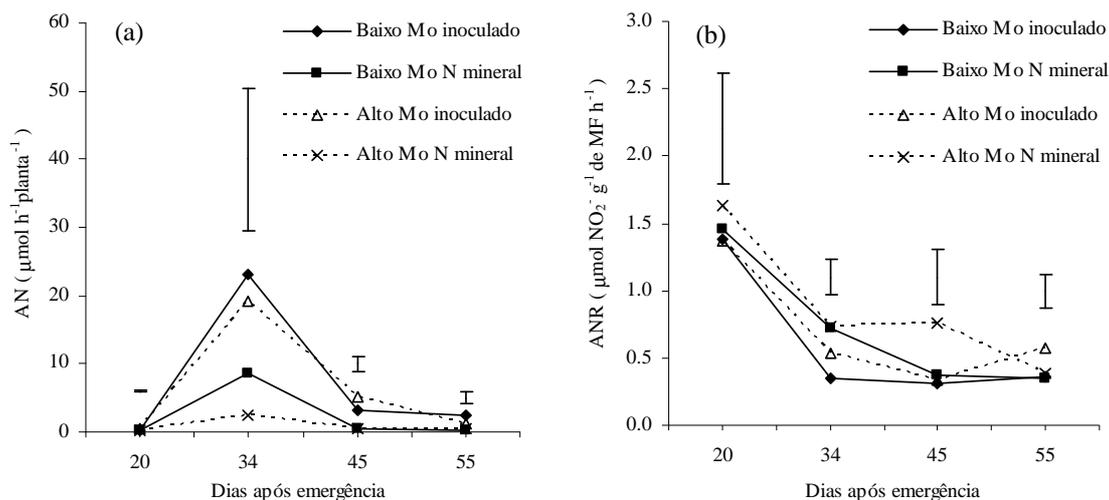
Sementes com alto teor de Mo aumentaram a atividade da nitrogenase nas plantas inoculadas aos 20 e 45 DAE (Tabela 7). De forma geral, as plantas inoculadas apresentaram maior atividade da nitrogenase durante todo o experimento, nos dois níveis de Mo na semente. As plantas inoculadas apresentaram maior atividade específica da nitrogenase que as plantas sob N mineral, aos 45 e 55 DAE, nos dois teores de Mo na semente (Tabela 7).

**Tabela 7.** Atividade da nitrato redutase em folhas, atividade da nitrogenase no sistema radicular e atividade específica da nitrogenase, de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), aos 20, 34, 45 e 55 dias após emergência.

Fonte de N	20 dias após emergência		34 dias após emergência		45 dias após emergência		55 dias após emergência	
	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo
	Nitrato redutase ( $\mu\text{mol NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ de MF h}^{-1}$ )							
Inoculado	1,39	1,37	0,35 b	0,54 a	0,31 Aa	0,34 Ab	0,36 B	0,57 A
N mineral	1,46	1,63	0,72 a	0,73 a	0,37 Ba	0,76 Aa	0,33 A	0,38 A
	Nitrogenase ( $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ h}^{-1} \text{ planta}^{-1}$ )							
Inoculado	0,19 Ba	0,52 Aa	23,1 a	19,3 a	3,18 Ba	5,14 Aa	2,43 a	1,31
N mineral	0,13 Aa	0,13 Ab	8,5 b	2,5 b	0,39 Ab	0,54 Ab	0,15 b	0,47
	Nitrogenase específica ( $\mu\text{mol g n\u00f3dulo}^{-1}$ )							
Inoculado	62	32	85	68	8,2 a	10,6 a	8,1 a	7,4 a
N mineral	72	10	47	13	0,9 b	1,0 b	0,4 b	1,1 b

M\u00e9dias seguidas da mesma letra, mai\u00fasculas na linha e min\u00fasculas na coluna, n\u00e3o diferem pelo teste Tukey a 5%; aus\u00eancia de letra indica diferen\u00e7a n\u00e3o significativa.

Observando a varia\u00e7\u00e3o da atividade das enzimas no tempo (Figura 3), constatou-se que a nitrogenase apresentou a maior atividade no per\u00edodo imediatamente anterior \u00e0 flora\u00e7\u00e3o (34 DAE), diminuindo a partir dessa fase e estabilizando no per\u00edodo de in\u00edcio de forma\u00e7\u00e3o de vagens (Figura 3a). A nitrato redutase apresentou sua m\u00e1xima atividade aos 20 DAE, decrescendo rapidamente at\u00e9 os 45 DAE (per\u00edodo in\u00edcio da forma\u00e7\u00e3o das vagens), estabilizando-se at\u00e9 55 DAE (per\u00edodo de enchimento das vagens). No entanto, as plantas originadas de sementes com alto teor de Mo quando receberam N mineral mantiveram a atividade da nitrato redutase relativamente est\u00e1vel entre os 34 e 45 DAE, diminuindo esta atividade ap\u00f3s esse per\u00edodo (Figura 3b).



**Figura 3.** Atividade das enzimas nitrogenase AN (a) e nitrato redutase ANR (b) de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), em quatro épocas de avaliação. As barras verticais representam a diferença mínima significativa do teste de Tukey ao nível de 5%, e comparam os quatro tratamentos dentro de cada coleta.

Sementes com alto Mo aumentaram o teor de N na folha aos 45 e 55 DAE (fase de início de enchimento da vagem) nas duas fontes de N, e aos 34 DAE nas plantas que foram inoculadas (Tabela 8). Plantas que receberam N mineral apresentaram um maior teor de N nas folhas, caule e raiz aos 20 DAE, nos dois teores de Mo na semente. Provavelmente a maior dose de N colocado no plantio e o N aplicado em cobertura nos tratamentos com N mineral contribuíram para o acúmulo de N no tecido vegetal, justificando esse aumento com a maior atividade da enzima nitrato redutase aos 20 DAE (Tabela 7 e Figura 3b). No entanto, as plantas que foram inoculadas tiveram um maior teor de N nas folhas, caule, nódulo e vagem aos 55 DAE, nos dois teores de Mo na semente (Tabela 8). Na primeira coleta, as plantas apresentaram pouca massa de nódulo, impedindo a análise de N nos nódulos. As plantas sob N mineral tiveram menor teor de N nos nódulos aos 45 e 55 DAE, indicando uma menor atividade diazotrófica nos nódulos. Foi observado aos 45 DAE que plantas oriundas de sementes com alto teor de Mo, quando foram inoculadas apresentaram maior teor de N no nódulo (Tabela 8).

**Tabela 8.** Teor de N na folha, caule, raiz, vagem e nódulo de plantas de feijoeiro, originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), aos 20, 34, 45 e 55 dias após emergência.

Fonte de N	20 dias após emergência		34 dias após emergência		45 dias após emergência		55 dias após emergência	
	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo
	Teor de N na folha (mg g <sup>-1</sup> )							
Inoculado	37,8 b	34,0 b	25,6 B	32,8 A	35,4 B	39,6 A	33,6 Ba	37,4 Aa
N mineral	44,2 a	44,3 a	28,5 A	30,0 A	31,9 B	36,4 A	26,0 Bb	30,6 Ab
	Teor de N no caule (mg g <sup>-1</sup> )							
Inoculado	18,8 b	16,6 b	20,0 A	22,2 A	19,7 Ba	23,9 Aa	11,7 a	10,6 a
N mineral	24,1 a	23,9 a	17,6 B	20,1 A	17,8 Ba	20,2 Ab	7,8 b	9,7 a
	Teor de N na raiz (mg g <sup>-1</sup> )							
Inoculado	18,8 b	17,6 b	15,6	14,9	15,9	17,1	16,1	15,9
N mineral	24,1 a	24,5 a	16,9	17,0	16,2	17,4	16,1	17,2
	Teor de N no nódulo (mg g <sup>-1</sup> )							
Inoculado	nd	nd	42,9	48,0	43,9 Ba	56,0 Aa	50,2 a	45,4 a
N mineral	nd	nd	43,9	40,7	38,8 Aa	43,9 Ab	37,9 b	37,5 b
	Teor de N na vagem (mg g <sup>-1</sup> )							
Inoculado	nd	nd	nd	nd	nd	nd	27,2 Aa	22,9 Ba
N mineral	nd	nd	nd	nd	nd	nd	20,2 Ab	22,6 Aa

Médias seguidas da mesma letra, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem pelo teste Tukey a 5%; ausência de letra indica diferença não significativa, nd – não determinado.

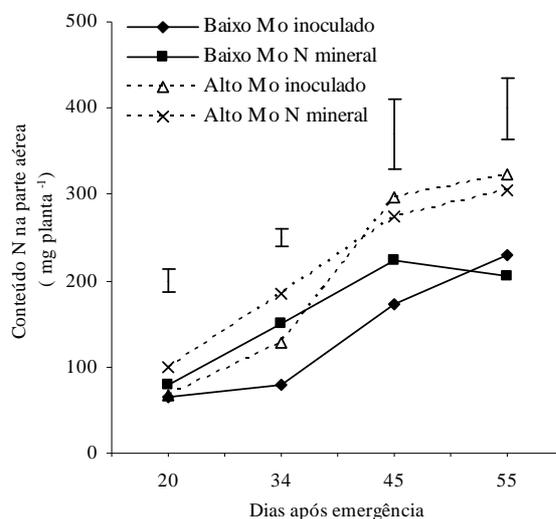
O alto teor de Mo na semente acarretou um aumento no conteúdo de N na parte aérea nas duas fontes de N aos 34, 45 e 55 DAE (Tabela 9 e Figura 4) e no conteúdo de N na vagem aos 55 DAE (Tabela 9). Plantas que receberam N mineral tiveram maior conteúdo de N na parte aérea aos 20 e 34 DAE do que plantas inoculadas (Tabela 9 e Figura 4), e maior conteúdo de N no sistema radicular durante todo ciclo, nos dois teores de Mo na semente. Sementes com alto teor de Mo aumentaram o conteúdo de N no nódulo aos 45 DAE, nas plantas que foram inoculadas (Tabela 9).

Foi observado um aumento crescente do conteúdo de N durante o desenvolvimento da planta (Figura 4). O período de maior aumento do conteúdo de N na parte aérea foi entre 34 e 45 DAE, fase de início de enchimento das vagens. Verificou-se um efeito do alto Mo na semente aumentando o conteúdo de N na parte aérea, tanto nas plantas inoculadas quanto nas plantas que receberam N mineral, durante todo o experimento. Cabe ressaltar o intenso aumento do conteúdo de N entre 34 e 45 DAE nas plantas inoculadas oriundas de sementes com alto Mo (Figura 4).

**Tabela 9.** Conteúdo de N na parte aérea, raiz, vagem e nódulo de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), aos 20, 34, 45 e 55 dias após emergência.

Fonte de N	20 dias após emergência		34 dias após emergência		45 dias após emergência		55 dias após emergência	
	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo
	Conteúdo de N na parte aérea (mg planta <sup>-1</sup> )							
Inoculado	64 a	68 b	79 Bb	128 Ab	173 B	298 A	229 B	323 A
N mineral	80 a	99 a	150 Ba	186 Aa	224 A	275 A	205 B	305 A
	Conteúdo de N na raiz (mg planta <sup>-1</sup> )							
Inoculado	6,6 b	8,7	14 b	15 a	16 b	21 b	17 b	18 b
N mineral	10,1 a	10,6	22 a	19 a	26 a	29 a	26 a	28 a
	Conteúdo de N no nódulo (mg planta <sup>-1</sup> )							
Inoculado	nd	nd	12	14	21 B	29 A	17	8
N mineral	nd	nd	7	11	18 A	22 A	15	17
	Conteúdo de N vagem (mg planta <sup>-1</sup> )							
Inoculado	nd	nd	nd	nd	nd	nd	59 B	98 A
N mineral	nd	nd	nd	nd	nd	nd	49 B	100 A

Médias seguidas da mesma letra, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem pelo teste Tukey a 5%; ausência de letra indica diferença não significativa, \* nd – não determinado.



**Figura 4.** Conteúdo de N na parte aérea de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), em quatro épocas de avaliação. As barras verticais representam a diferença mínima significativa do teste Tukey ao nível de 5%, e comparam os quatro tratamentos dentro de cada coleta.

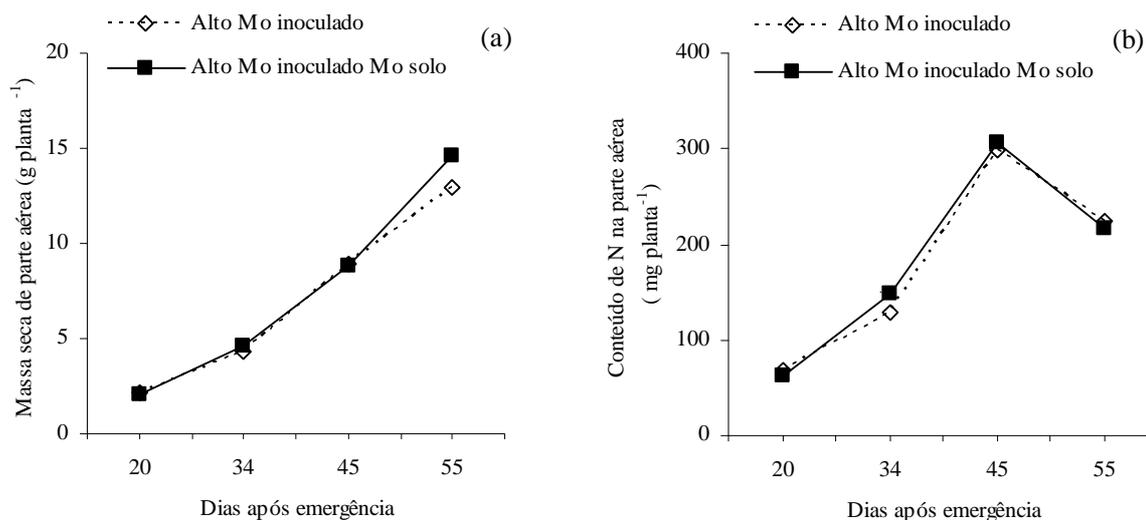
A tabela 10 representa os valores das taxas de assimilação líquida e de crescimento absoluto, calculados pelo método clássico de análise de crescimento para cada intervalo de tempo entre as coletas. Houve uma maior taxa de crescimento absoluto e taxa de assimilação líquida nas plantas que receberam N mineral entre a primeira e segunda coleta (dos 20 aos 34 DAE), tanto em sementes com baixo ou alto Mo. Este resultado demonstra que a adubação nitrogenada promoveu um estímulo ao crescimento do feijoeiro no início do ciclo vegetativo. Por outro lado, houve uma diminuição nas taxas de crescimento entre a segunda e terceira coleta (dos 34 aos 45 DAE) na presença do N mineral, isto porque o estímulo ao crescimento foi compensado nas plantas inoculadas com alto Mo (Tabela 10). Não foi observada diferença significativa nas taxas de crescimento entre os níveis de Mo na semente e as diferentes fontes de N entre os 45 aos 55 DAE (Tabela 10).

**Tabela 10.** Taxas de assimilação líquida e crescimento absoluto de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, calculada pelo método clássico de análise de crescimento vegetal para cada intervalo de coletas aos 20, 34, 45 e 55 dias após emergência.

Fonte de N	20-34 dias após emergência		34-45 dias após emergência		45-55 dias após emergência	
	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo
	Taxa de assimilação líquida ( $\text{g m}^{-2}$ área foliar $\text{dia}^{-1}$ )					
Inoculado	3,1 b	3,1 b	2,7 a	3,4 a	2,8	2,3
N mineral	4,8 a	4,6 a	2,2 a	2,0 b	2,3	3,1
	Taxa de crescimento absoluto ( $\text{mg dia}^{-1}$ )					
Inoculado	161 b	206 b	261 Ba	457 Aa	295	330
N mineral	355 a	381 a	318 Aa	306 Ab	304	460

Médias seguidas da mesma letra, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem pelo teste Tukey a 5%; ausência de letra indica diferença não significativa.

Neste experimento foi incluído um tratamento extra, de sementes com alto teor de Mo, inoculação e adição de Mo ao solo, com o objetivo de avaliar se as sementes com alto Mo utilizadas no experimento supririam as demandas das plantas de feijoeiro, ou seria necessária ainda uma complementação com Mo no solo. Não foi identificado efeito significativo do Mo aplicado no solo quando comparado com o tratamento com alto Mo na semente e inoculação, segundo a análise de variância efetuada comparando-se apenas estes dois tratamentos (Anexo Tabelas 43 e 44 com os valores médios destes tratamentos). Na Figura 5 são apresentados os dados de massa de parte aérea e de conteúdo de N na parte aérea destes dois tratamentos nas quatro épocas de coleta, demonstrando que não houve diferença com a adição de Mo no solo, apesar de uma tendência de maior massa de parte aérea nas plantas que receberam Mo no solo aos 55 DAE. Desta forma, pode-se admitir que o suprimento de Mo nas sementes com alto teor de Mo foi suficiente para garantir um adequado crescimento e acumulação de N no feijoeiro.



**Figura 5.** Massa seca de parte aérea (a) e conteúdo de N na parte aérea (b) de plantas de feijoeiro originadas de sementes com alto teor de Mo, inoculação com rizóbio e adição de Mo no solo, em quatro épocas de avaliação.

#### 4.3. Experimento 2

A avaliação da data de floração do feijoeiro indicou precocidade das plantas originadas de sementes com alto teor de Mo, sem efeito significativo das fontes de N na época de floração (Tabela 11).

**Tabela 11.** Data de floração nas plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral).

Fonte de N	Floração (DAE)	
	Baixo Mo	Alto Mo
Inoculado	35,3 A	34,8 A
N mineral	36,2 A	34,9 B

Médias seguidas da mesma letra, maiúsculas na linha, não diferem pelo teste Tukey a 5%; ausência de letra indica diferença não significativa.

Plantas que receberam N mineral apresentaram maior massa de folha, caule, parte aérea, raiz e vagem do que plantas inoculadas aos 38 e 51 dias após emergência, nos dois teores de Mo na semente (Tabela 12). De uma forma, geral, não houve diferenças entre os níveis de Mo nas sementes na produção de biomassa aos 38 DAE, mas aos 51 DAE plantas oriundas de sementes com alto teor de Mo tiveram maior massa de parte aérea, de vagem (Tabela 12) e massa total da planta (Tabela 13), tanto nas plantas que foram inoculadas quanto nas plantas que receberam N mineral. Plantas originadas de sementes com alto teor de Mo apresentaram menor número de nódulos aos 51 DAE quando na presença de N mineral (Tabela 13). Não houve diferença significativa no número de nódulos aos 38 DAE entre as fontes de N e os teores de Mo na semente (Tabela 13). No entanto, o alto Mo na semente aumentou a massa de nódulos aos 38 DAE e a massa unitária de nódulo aos 51 DAE nas duas fontes de N. Plantas que foram inoculadas apresentaram maior massa de nódulos e massa unitária de nódulo aos 51 DAE do que plantas que receberam N mineral, nos dois teores de Mo na semente. Analisando a massa de folhas senescentes durante todo o ciclo da cultura, não foi observada diferença significativa entre os níveis de Mo e as fontes de N (Tabela 13).



**Tabela 13.** Massa seca de nódulo, número de nódulos, massa unitária de nódulos, massa seca total e massa seca de folhas senescentes (coletadas durante todo o ciclo), de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), aos 38 e 51 dias após emergência.

Fonte de N	38 dias após emergência		51 dias após emergência	
	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo
	Número de nódulos (planta <sup>-1</sup> )			
Inoculado	311	361	427 A	342 A
N mineral	222	258	396 A	243 B
	Massa seca de nódulos (mg planta <sup>-1</sup> )			
Inoculado	336 Ba	525 Aa	1145 a	1123 a
N mineral	267 Ba	371 Ab	702 b	813 b
	Massa seca de 1 nódulo (mg)			
Inoculado	1,14	1,50	2,73 Ba	3,63 Aa
N mineral	1,24	1,55	1,82 Bb	3,40 Aa
	Massa seca de folhas senescentes (g planta <sup>-1</sup> )			
Inoculado	0,43	0,11	1,34	0,95
N mineral	0,43	0,24	1,28	1,38
	Massa seca total (g planta <sup>-1</sup> )			
Inoculado	10,64 b	12,10 b	14,25 Bb	17,23 Ab
N mineral	13,86 a	14,62 a	18,92 Ba	22,88 Aa

Médias seguidas da mesma letra, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem pelo teste Tukey a 5%; ausência de letra indica diferença não significativa.

O maior teor de Mo nas sementes causou um aumento na atividade da nitrato redutase nas folhas aos 51 DAE (estádio de enchimento das vagens), tanto nas plantas inoculadas quanto nas que receberam N mineral (Tabela 14), contribuindo com a assimilação do N do solo. Não foi observado diferença significativa na atividade da nitrato redutase entre os níveis de Mo na semente aos 38 DAE e entre as diferentes fontes de N entre as coletas (Tabela 14).

Plantas de feijoeiro originadas de sementes com alto teor de Mo apresentaram maior atividade da nitrogenase quando inoculadas aos 38 DAE, sob N mineral aos 51 DAE (Tabela 14). As plantas que receberam N mineral apresentaram menor atividade da nitrogenase do que plantas inoculadas nas duas épocas de coleta, tanto nas sementes com baixo quanto com alto Mo. Mesmo com menor número de nódulos, a atividade específica da nitrogenase foi superior nas plantas originadas de sementes com alto teor de Mo aos 51 DAE, quando na presença do N mineral, comparadas com as plantas originadas de sementes com baixo teor de Mo (Tabela 14).

**Tabela 14.** Atividade da nitrato redutase em folhas, atividade da nitrogenase no sistema radicular, e atividade específica da nitrogenase de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), aos 38 e 51 dias após emergência.

Fonte de N	38 dias após emergência		51 dias após emergência	
	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo
	Nitrato redutase ( $\mu\text{mol NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ de MF h}^{-1}$ )			
Inoculado	0,48	0,50	0,22 B	0,41 A
N mineral	0,46	0,65	0,19 B	0,48 A
	Nitrogenase ( $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ h}^{-1} \text{ planta}^{-1}$ )			
Inoculado	30,4 Ba	45,6 Aa	0,84 Aa	0,99Aa
N mineral	16,3 Ab	20,2 Ab	0,03 Bb	0,76 Aa
	Nitrogenase específica ( $\mu\text{mol g n\u00f3dulo}^{-1}$ )			
Inoculado	92	91	0,74 Aa	0,91Aa
N mineral	68	60	0,05 Bb	0,92 Aa

Médias seguidas da mesma letra, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem pelo teste Tukey a 5%; ausência de letra indica diferença não significativa.

Sementes com alto teor de Mo aumentaram o teor de N na folha e caule aos 51 DAE e nos nódulos aos 38 DAE, tanto nas plantas com N mineral ou inoculadas (Tabela 15). As plantas originadas de sementes com alto Mo tiveram maior teor de N na folha aos 38 DAE quando inoculadas, e maior teor de N na raiz aos 51 DAE quando sob N mineral (Tabela 15).

Plantas que receberam N mineral apresentaram maior teor de N na raiz aos 51 DAE, nos dois teores de Mo na semente. Plantas inoculadas tiveram um maior teor de N nos nódulos nas duas épocas de coleta, tanto nas sementes com baixo quanto com alto Mo (Tabela 15), confirmando a importância da FBN como fonte de N para planta. Não houve diferença significativa entre os teores de Mo na semente ou entre as fontes de N para o teor de N na vagem e nas folhas senescentes aos 51 DAE (Tabela 15).

O alto teor de Mo na semente aumentou o conteúdo de N na folha, no caule e total da planta nas duas épocas de coleta, tanto nas plantas inoculadas quanto nas plantas que receberam N mineral (Tabela 16). O alto Mo na semente aumentou o conteúdo de N no nódulo aos 38 DAE, e o conteúdo de N na vagem aos 51 DAE, tanto nas plantas que receberam N mineral quanto nas plantas inoculadas (Tabela 16). Plantas que receberam N mineral tiveram maior conteúdo de N na folha, caule, raiz e total aos 38 e 51 DAE, e na vagem aos 51 DAE, nos dois teores de Mo na semente (Tabela 16). Plantas inoculadas apresentam maior conteúdo de N no nódulo que as plantas sob N mineral, nas duas épocas de coleta e nos dois teores de Mo na semente. Não foi observado efeito significativo dos níveis de Mo na semente e das fontes de N no conteúdo de N na folha senescente aos 51 DAE (Tabela 16).

**Tabela 15.** Teor de N na folha, caule, raiz, vagem, nódulo e folha senescente de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), aos 38 e 51 dias após emergência.

Fonte de N	38 dias após emergência		51 dias após emergência	
	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo
	Teor de N na folha (mg g <sup>-1</sup> )			
Inoculado	17,5 Bb	25,4 Aa	16,9 B	25,0 A
N mineral	21,4 Aa	24,0 Aa	17,9 B	22,1 A
	Teor de N no caule (mg g <sup>-1</sup> )			
Inoculado	8,8 B	11,4 A	6,5 B	8,4 A
N mineral	9,8 A	10,7 A	7,2 B	9,0 A
	Teor de N na raiz (mg g <sup>-1</sup> )			
Inoculado	14,1 b	15,0 a	14,2 Ab	14,2 Ab
N mineral	17,4 a	17,2 a	15,8 Ba	17,4 Aa
	Teor de N no nódulo (mg g <sup>-1</sup> )			
Inoculado	48,4 Ba	55,3 Aa	49,0 a	52,9 a
N mineral	40,1 Bb	47,4 Ab	39,9 b	42,3 b
	Teor de N na vagem (mg g <sup>-1</sup> )			
Inoculado	nd	nd	26,6	29,2
N mineral	nd	nd	26,9	29,4
	Teor de N na folha senescente (mg g <sup>-1</sup> )			
Inoculado	nd	nd	11,4	12,4
N mineral	nd	nd	12,2	12,7

Médias seguidas da mesma letra, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem pelo teste Tukey a 5%; ausência de letra indica diferença não significativa, \* nd – não determinado.

**Tabela 16.** Conteúdo de N na folha, caule, raiz, nódulo, vagem, total e folha senescente de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixo e alto teor de Mo, sob duas fontes de N (inoculação com rizóbio e N mineral), aos 38 e 51 dias após emergência.

Fonte de N	38 dias após emergência		51 dias após emergência	
	Baixo Mo	Alto Mo	Baixo Mo	Alto Mo
		Conteúdo de N na folha (mg planta <sup>-1</sup> )		
Inoculado	105 Bb	180 Ab	91 Bb	158 Ab
N mineral	183 Ba	220 Aa	136 Ba	197 Aa
		Conteúdo de N no caule (mg planta <sup>-1</sup> )		
Inoculado	26 Bb	35 Aa	29 Bb	36 Ab
N mineral	34 Aa	39 Aa	42 Ba	55 Aa
		Conteúdo de N na raiz (mg planta <sup>-1</sup> )		
Inoculado	18 b	20 a	21 b	21 b
N mineral	27 a	26 a	30 a	34 a
		Conteúdo de N no nódulo (mg planta <sup>-1</sup> )		
Inoculado	16 Ba	29 Aa	56 a	60 a
N mineral	11 Bb	18 Ab	28 b	34 b
		Conteúdo de N vagem (mg planta <sup>-1</sup> )		
Inoculado	nd	nd	46 Bb	110 Ab
N mineral	nd	nd	77 Ba	144 Aa
		Conteúdo de N na folha senescente (mg planta <sup>-1</sup> )		
Inoculado	nd	nd	15	12
N mineral	nd	nd	15	17
		Conteúdo de N total (mg planta <sup>-1</sup> )		
Inoculado	165 Bb	264 Aa	243 Bb	384 Ab
N mineral	255 Ba	302 Aa	313 Ba	465 Aa

Médias seguidas da mesma letra, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem pelo teste Tukey a 5%; ausência de letra indica diferença não significativa, \* nd – não determinado.

Para o cálculo da contribuição da FBN foram utilizadas as médias do enriquecimento de <sup>15</sup>N das plantas controle (sorgo, girassol e feijão não nodulante), para cada época de coleta (Tabela 17). Avaliando a contribuição da FBN no feijoeiro, estimada pela técnica de diluição isotópica de <sup>15</sup>N, observou-se um efeito significativo dos teores de Mo na semente. Plantas originadas de sementes com alto teor de Mo tiveram maior contribuição da FBN aos 38 e 51 DAE (Tabela 19). Aos 51 DAE (período de enchimento das vagens) observou-se um efeito mais intenso das sementes com Mo, com contribuição da FBN de 12,5% e 49,8% nas sementes com baixo e alto teor respectivamente (Tabela 19). Verificou-se também uma maior contribuição da FBN aos 51 DAE que aos 38 DAE, ou seja, a contribuição da FBN aumentou após a floração do feijoeiro (Tabela 19).

**Tabela 17.** Valores de %  $^{15}\text{N}$  excesso de plantas de sorgo, girassol e feijão não nodulante aos 38 e 51 dias após emergência.

% $^{15}\text{N}$ excesso	38 dias após emergência	51 dias após emergência
Sorgo	0,0271	0,0373
Girassol	0,0416	0,0403
Feijão não nodulante	0,0344	0,0330
Média	0,0344	0,0368

**Tabela 18.** Valores de %  $^{15}\text{N}$  excesso em folhas de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixos e altos teores de Mo e que foram inoculadas, aos 38 e 51 dias após emergência (DAE).

% $^{15}\text{N}$ excesso	Baixo Mo	Alto Mo
38 DAE	0,0321	0,0285
51 DAE	0,0322	0,0185

**Tabela 19.** Contribuição da fixação biológica de N (%) nas folhas de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixos e altos teores de Mo e que foram inoculadas, estimada pela diluição isotópica de  $^{15}\text{N}$ , aos 38 e 51 dias após emergência (DAE).

% FBN	Baixo Mo	Alto Mo	Média
38 DAE	6,5 Bb	16,9 Ab	11,7 b
51 DAE	12,7 Ba	49,8 Aa	31,3 a
Média	9,6 B	33,4 A	

Médias seguidas da mesma letra, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem pelo teste Tukey a 5%; ausência de letra indica diferença não significativa.

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. Acumulação de biomassa

O enriquecimento de sementes é uma técnica pouco estudada (Milani et al., 2008), por isso, pouco se sabe sobre a eficiência de sementes enriquecidas com Mo na nodulação de planta leguminosas. No entanto, o efeito do aumento do teor de Mo nas sementes de feijoeiro, obtidas em plantas que receberam adubação foliar, tem sido relatada na literatura científica desde 1985 por Jacob-Neto (1985) e Jacob-Neto & Franco (1986) e mais recentemente por Kubota et al. (2008) e Chagas (2008).

Neste trabalho, verificou-se que sementes com alto teor de Mo proporcionaram um aumento na biomassa da parte aérea do feijoeiro durante todo ciclo da cultura no experimento 1 (Tabelas 2 e 5), mas no experimento 2 esse efeito positivo do Mo na semente foi observado somente aos 51 DAE (Tabelas 12 e 13). Kubota et al. (2008) também observaram esse efeito positivo do alto teor de Mo nas sementes no acúmulo de biomassa na parte aérea e na raiz de três cultivares de feijoeiro em casa de vegetação.

Plantas que receberam N mineral apresentaram maior produção de massa de parte aérea, massa de raiz e massa total em todos os experimentos (Tabelas 2, 5 12 e 13); aumentos similares foram observados por Chagas (2008) aos 41 DAE nos tratamentos que receberam uréia. Por outro lado, a adição de N mineral reduziu o número de nódulos, confirmando que a aplicação de N mineral inibe a nodulação (Tabelas 1 e 6; Chagas, 2008). Pelegrin et al. (2009) também observaram a mesma tendência de diminuição da nodulação conforme o aumento da dose de N aplicada ao solo na cultivar Pérola.

No ensaio preliminar e nos dois experimentos, observou-se uma redução no número de nódulos das plantas oriundas de sementes com alto teor de Mo no estágio de enchimento das vagens (Tabelas 2, 6 e 13). Kubota et al. (2008) também observaram uma redução no número de nódulos nas plantas oriundas de sementes com alto teor de Mo na fase de enchimento das vagens. No entanto, essa redução no número de nódulos não afetou a massa de nódulos (Tabelas 2, 6 e 13), ou seja, plantas oriundas de sementes com alto Mo apresentaram uma maior massa unitária de nódulos, com nódulos de maior tamanho (Tabelas 2 e 13). Uma hipótese sugerida para explicar a redução da nodulação nas plantas originadas de sementes com alto teor de Mo seria a antecipação do surgimento de botões florais nas plantas originadas de sementes com alto Mo (Tabelas 4 e 11). Este maior Mo da semente nessas plantas ocasionou um crescimento reprodutivo mais precoce e intenso, induzindo uma maior translocação de fotoassimilados para as vagens, reduzindo o suprimento para os nódulos e causando uma interrupção na formação de novos nódulos, reduzindo o número de nódulos nas plantas originadas de sementes com alto teor de Mo, como sugerido por Kubota et al. (2008). Isto também parece se confirmar pela maior massa de vagens de plantas oriundas de sementes com alto Mo (Tabelas 5 e 12).

No ensaio preliminar, verificou-se uma expressiva nodulação nas plantas testemunhas (Tabela 2), demonstrando a grande capacidade do feijoeiro de nodular com as estirpes de rizóbio nativas do solo. Chagas (2008) também observou essa expressiva nodulação em plantas testemunha crescidas em vasos e Pelegrin et al. (2009) em experimento de campo. Desta forma, optou-se nos experimentos seguintes em não utilizar o tratamento de testemunha absoluta, pela impossibilidade de obtenção de plantas sem nódulos.

## 5.2. Atividade das enzimas

Sementes com alto teor de Mo aumentaram a atividade da enzima nitrato redutase nas folhas no período de início de enchimento das vagens, tanto no ensaio preliminar quanto nos dois experimentos (Tabelas 2, 7 e 14). Isso demonstra a importância do Mo na assimilação do N do solo na fase de maior demanda de nutriente para planta. Plantas que receberam N mineral apresentaram maior atividade da nitrato redutase nos dois teores de Mo nas sementes (Tabelas 2 e 7), demonstrando que sementes enriquecidas com Mo podem ser úteis inclusive em cultivos que recebam adubação nitrogenada. Vieira et al. (1998) e Pessoa et al. (2001), em experimento de campo com plantas de feijoeiro que receberam adubação foliar com Mo ao 25 DAE, também observaram um aumento na atividade da nitrato redutase no período de enchimento das vagens.

Os valores da atividade da nitrato redutase observados tanto no ensaio preliminar quanto nos experimentos 1 e 2 nas diferentes fases de desenvolvimento, não apresentaram grandes variações de um experimento para o outro. Estes valores estão próximos aos valores da atividade da nitrato redutase encontrados por Pessoa et al. (2001) em plantas de feijoeiro em experimento de campo.

O alto teor de Mo nas sementes aumentou a atividade da nitrogenase tanto no experimento 1 aos 20 e 45 DAE (Tabela 7) quanto no experimento 2 aos 38 e 51 DAE (Tabela 14). Resultados semelhantes foram observados por Kubota et al. (2008) em experimento em casa de vegetação, que verificaram aumento da atividade da nitrogenase aos 30 DAE em plantas oriundas de sementes enriquecidas com Mo. Como o Mo é um componente da enzima nitrogenase, fica claro que o suprimento de Mo nas sementes é de fundamental importância para o aumento da fixação biológica de N<sub>2</sub>. Vieira et al. (1998) também observaram um aumento na atividade da nitrogenase aos 46 DAE em experimento de campo nas plantas que receberam adubação foliar de Mo aos 25 DAE. Neste contexto, podemos concluir que o aumento da atividade da nitrogenase em plantas oriundas de sementes com alto teor de Mo (Tabela 14), mesmo com a redução do número de nódulos (Tabela 13), contribuiu de forma positiva com o processo de FBN.

A determinação da atividade da nitrogenase através da técnica de redução de acetileno proporcionou identificar variação da atividade dessa enzima durante o ciclo do feijoeiro (Figura 3a). As plantas inoculadas apresentaram maior atividade da nitrogenase durante todo o período experimental, em ambos experimentos (Tabelas 7 e 14), quando comparadas com as plantas que receberam N mineral. Isto comprova que a aplicação de N mineral inibe a atividade diazotrófica. Isto também foi comprovado pelos menores teor e conteúdo de N nos nódulos nas plantas que receberam N mineral observados nos dois experimentos (Tabelas 8, 9, 15 e 16).

As atividades das enzimas durante o período experimental apresentaram valores máximos em épocas diferentes do ciclo da cultura: a nitrato redutase apresentou sua máxima atividade aos 20 DAE (período de crescimento vegetativo), enquanto a nitrogenase apresentou máxima atividade aos 34 DAE (período que antecede a floração) diminuindo a partir dessa fase (Figura 3). Hungria et al. (1985) em experimento de vasos em casa de vegetação, e Neves et al. (1982) em experimento de campo, também observaram uma maior atividade da nitrato redutase logo no início do ciclo do feijão.

Franco et al. (1979) e Neves et al. (1982) em experimento de campo e Jacob-Neto et al. (1988) em casa de vegetação, observaram uma diminuição na atividade da nitrogenase logo após o início da floração. No entanto, Hungria & Neves (1986), em experimento em casa de vegetação, observaram um aumento na atividade da nitrogenase logo após o florescimento, atingindo o pico no período de formação das vagens. Esse

aumento na atividade das enzimas contribuiu de forma bastante expressiva na nutrição do feijoeiro em épocas de grande demanda de nutrientes para a planta.

### **5.3. Acumulação de N**

O alto teor de Mo nas sementes aumentou a acumulação de N na parte aérea e total das plantas de feijoeiro, tanto no ensaio preliminar aos 42 DAE (Tabela 3), como no experimento 1 (Tabela 9 e Figura 4) e no experimento 2 (Tabela 16). Kubota et al. (2008) também verificaram um maior acúmulo de N na parte aérea em plantas de feijoeiro originadas de sementes com alto teor de Mo. Esse aumento do conteúdo de N na parte aérea das plantas, devido ao maior teor de Mo na semente, pode ser explicado pela participação desse elemento nas enzimas nitrato redutase e nitrogenase, resultando em maior aproveitamento do N absorvido do solo como também da FBN pelas plantas. Pessoa et al. (2000), Ferreira et al. (2002) e Pires et al. (2005), em experimentos de campo, verificaram que a aplicação foliar de Mo aumentou o teor de N nas folhas em plantas de feijoeiro.

Foi observado um aumento na acumulação de massa e de N na parte aérea com o desenvolvimento da planta (Figura 4). O maior conteúdo de N na parte aérea foi observado aos 55 DAE, mas o período entre 34 e 45 DAE, de formação das vagens, foi quando ocorreu o aumento mais intenso na acumulação de N (Figura 4). Este aumento no conteúdo de N durante a formação das vagens foi mais intenso nas plantas oriundas de sementes com alto Mo. Kumarasinghe et al. (1992) também observaram um maior acúmulo de N no período de enchimento das vagens.

### **5.4. Contribuição da FBN**

Segundo Kumarasinghe et al. (1992), a melhor parte da planta para se realizar o cálculo da contribuição da FBN seria a vagem e em seguida a parte aérea da planta. Neste experimento foram utilizadas as folhas da planta para avaliar a contribuição da FBN, pois onde se acumulou a maior parte do N contido nas plantas de feijoeiro (Tabelas 16). O alto Mo na semente aumentou a contribuição da FBN no feijoeiro nas duas épocas avaliadas (Tabela 19). Valores semelhantes de contribuição da FBN foram verificados por Rennie & Kemp (1983), que observaram uma contribuição média da FBN de 51,8% em cultivares de feijoeiro que receberam  $10 \text{ kg N ha}^{-1}$ . Já Rondon et al. (2007) observaram um aumento na contribuição da FBN de 50% para 72% quando foi adicionado bio-carvão ao solo.

A contribuição da FBN foi maior no período de enchimento das vagens (Tabela 19). Kumarasinghe et al. (1992) também observaram em plantas de feijoeiro uma maior contribuição da FBN nesse período. Os valores da contribuição da FBN foram de 12,7% em sementes com baixo teor de Mo e 49,8% em sementes com alto teor de Mo. Chagas (2008), em experimento de vasos utilizando a cultivar Carioca, constatou uma contribuição da fixação biológica de N de 56% em plantas oriundas de sementes com baixo Mo e 60% em plantas originadas de sementes com alto Mo.

## 6. CONCLUSÕES

Plantas de feijoeiro originadas de sementes com alto teor de Mo tiveram floração antecipada, e acumularam mais biomassa e N na parte aérea, tanto nos estágios vegetativos quanto reprodutivos, do que plantas originadas de sementes com baixo teor de Mo.

O alto teor de Mo nas sementes aumentou a atividade da nitrato redutase nas folhas feijoeiro no estágio de enchimento das vagens, tanto nas plantas inoculadas ou que receberam N mineral.

O alto teor de Mo nas sementes aumentou a atividade da nitrogenase no sistema radicular de plantas inoculadas de feijoeiro, no estágio vegetativo e no início de formação de vagens.

O alto teor de Mo nas sementes aumentou a contribuição da fixação biológica de N, sendo este efeito mais intenso no estágio de formação das vagens.

Sementes de feijoeiro enriquecidas com Mo estimulam tanto a assimilação de N do solo quanto a fixação biológica de N, antecipando o desenvolvimento reprodutivo e aumentando a acumulação de biomassa e de N do feijoeiro.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, L.D.; LEITÃO FILHO, H.F.; MIYASAKA, S. Característica do feijão Carioca, um novo cultivar. **Bragantia**, v.30, p.33-38, 1971.

AMARGER, N.; MACHERET, V.; LAGUERRE, G. *Rhizobium gallicum* sp. nov. and *Rhizobium giardinii* sp. nov. from *Phaseolus vulgaris* nodules. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.47, p.996-1006, 1997.

BODDEY, R.M.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S. Quantificação da fixação biológica de nitrogênio associada a plantas utilizando o isótopo <sup>15</sup>N. In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R.S. (Ed.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: Embrapa CNPAF, 1994. p.471-494.

BODDEY, R.M.; MÜLLER, S.H.; ALVES, B.J.R. Estimation of the contribution of biological N<sub>2</sub> fixation to two *Phaseolus vulgaris* genotypes using simulation of plant nitrogen uptake from <sup>15</sup>N-labelled soil. **Fertilizer Research**, v.45, p.169-185, 1996.

BOLLAND, M.D.A.; BACKER, M.J. Powdered granite is not an effective fertilizer for clover and wheat in sandy soil from Western Australia. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v.56, p.59-68, 2000.

BRAGANTINI, C. Produção de sementes. In: ARAÚJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M.J.O. (Ed.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: POTAFOS, 1996. p.639-667.

BRODRICK, S.J.; GILLER, K.E. Root nodules of *Phaseolus*: efficient scavengers of molybdenum for N<sub>2</sub>-fixation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.42, p.679-686, 1991.

BRODRICK, S.J.; AMIJEE, F.; KIPE-NOLT, J.A.; GILLER, K.E. Seed analysis as a means of identifying micronutrient deficiencies of *Phaseolus vulgaris* L. in the tropics. **Tropical Agriculture**, Trinidad, v.72, p.277-284, 1995.

BULISANI, E.A. Feijão carioca – uma história de sucesso. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/2008\\_4/FeijãoCarioca/index.htm](http://www.infobibos.com/2008_4/FeijãoCarioca/index.htm)>. Acessado em: 6/1/2010.

CARBONELL, S.A.M. **Sérgio Augusto Morais Carbonell**: Feijão carioca ocupa 85% do mercado nacional. Folha online. Entrevistador: Fabiana Seragusa. Disponível em: <<http://www.folha.uol.com.br>>. Acessado em: 27/11/2009.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, Tecnologia e Produção**. 3.ed. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 424p.

CONAB. **Previsão e acompanhamento da safra 2008/2009**: levantamento:Dez./2008. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acessado em: 15/07/2009.

CHAGAS, E. **Contribuição das sementes com altos teores de fósforo e molibdênio na fixação biológica de nitrogênio em feijoeiro estimada pela diluição isotópica de <sup>15</sup>N**. Seropédica: UFRRJ, 2008. 35p. (Dissertação de Mestrado em Ciência do Solo).

CHALK, P.M. Estimation of N<sub>2</sub> fixation by isotope dilution: an appraisal of techniques involving <sup>15</sup>N enrichment and their application. **Soil Biology Biochemistry**, v.17, p.389-410, 1985.

CHUEIRE, L.M.O. Classificação taxonômica, baseada na caracterização molecular das estirpes de rizóbio recomendadas para as culturas de soja e do feijoeiro. Londrina: Embrapa-CNPSO, 2000. 32p.

DÖBEREINER, J.; RUSCHEL, A.P.; BRITTO, D.P.P.S. Fixação Simbiótica de Nitrogênio Atmosférico em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). II Influência do magnésio, do boro, do molibdênio e da calagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.1, p.141-145, 1966.

DÖBEREINER, J.; FRANCO, A.A.; Especificidade hospedeira na simbiose com *Rhizobium* – Feijão e influência de diferentes nutrientes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.2, p.467-474, 1967.

DÖBEREINER, J. Avanços recentes na pesquisa em fixação biológica de nitrogênio no Brasil. *Estudos Avançados* [online]. v.4 n.8, p.144-152, 1990,

DÖBEREINER, J. Biological nitrogen fixation in the tropics: social and economic contributions. **Soil Biology Biochemistry**, v.29, p.771-774, 1997.

DUQUE, F.F.; NEVES, M.C.P.; FRANCO, A.A.; VICTORIA, R.L.; BODDEY, R.M. The response of Field grown *Phaseolus vulgaris* to *Rhizobium* inoculation and the quantification of N<sub>2</sub> fixation using <sup>15</sup>N. **Plant and Soil**, v.88, p.333-343, 1985.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Manual de métodos de análise de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 1997. 212p.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT**. 2007. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acessado em: 27/11/2009.

FERNANDES JÚNIOR, P.I.; REIS, V.M. **Algumas limitações à fixação biológica de nitrogênio em leguminosas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2008. (Documentos, 252). 33p.

FERREIRA, A.N.; ARF, O.; CARVALHO, M.A.C.; ARAUJO, R.S.; SÁ, M.E.; BUZZETTI, S.. Estirpes de *Rhizobium tropici* na inoculação do feijoeiro. **Scientia Agrícola**, v.57, n.3, p.507-512, 2000.

FERREIRA, A.C.B.; ARAÚJO, G.A.A.; CARDOSO, A.A.; FONTES, P.C.R.; VIEIRA, C. Influência do molibdênio contido na semente e da sua aplicação foliar sobre a composição mineral de folhas e sementes do feijoeiro. **Revista Ceres**, v.49, n.284, p.443-452, 2002.

FERREIRA, A.C.B.; ARAÚJO, G.A.A.; CARDOSO, A.A.; FONTES, P.C.R.; VIEIRA, C.; Diagnose do estado nutricional molíbdico do feijoeiro em razão do molibdênio contido na semente da sua aplicação. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.9, n.4, p.397-401, 2003a.

FERREIRA, A.C.B.; ARAÚJO, G.A.A.; CARDOSO, A.A.; FONTES, P.C.R.; VIEIRA, C.; Características agronômicas do feijoeiro em função do molibdênio contido na semente e de sua aplicação via foliar. **Acta Scientiarum: Agronomy**, Maringá, v.25, n.1, p.65-72, 2003b.

FRANCO, A.A.; DÖBEREINER, J. Interferência do cálcio e do nitrogênio na fixação simbiótica do nitrogênio por duas variedades de *Phaseolus vulgaris* L. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.3, p.223-227, 1968.

FRANCO, A.A.; PEREIRA, J.C.; NEYRA, C.A. Seasonal patterns of nitrate reductase and nitrogenase activities in (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Physiology**, v.63, p.421-424, 1979. GUPTA, U.C.; LIPSET, J. Molybdenum in soils, plants and animals. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.34, p.73-115, 1981.

GUSS, A.; DÖBEREINER, J. Efeito da adubação nitrogenada e da temperatura do solo na fixação do nitrogênio em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.7, p.87-92, 1972.

GUARESCHI, R.F.; PERIN, A.; ROCHA, A.C. Inoculação com *Rhizobium tropici* na cultura do feijoeiro comum em solos de cerrado. **Revista Universidade Rural – Série Ciência da Vida**, v.29, n.1, p.42-48, 2009.

HARDY, R.W.H.; BURNS, R.C.; HOLSTEN, R.D. Applications of the acetylene assay for measurement of nitrogen fixation. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.5, p. 47-81, 1973.

HUNGRIA, M.; NEVES, M.C.P.; VICTORIA, R.L. Assimilação do nitrogênio pelo feijoeiro. I Atividade da nitrogenase, da reductase do nitrato e transporte do nitrogênio na seiva do xilema. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.9, p.193-200, 1985.

HUNGRIA, M.; NEVES, M.C.P. Ontogenia da fixação biológica do nitrogênio em *Phaseolus Vulgaris*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.21, p.715-730, 1986.

HUNGRIA, M.; ANDRADE, D.S.; CHUEIRE, L.M.O.; PROBANZA, A.; GUTTIERREZ-MAÑERO, F.J.; MEGÍAS, M. Isolation and characterization of new efficient and competitive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from Brazil. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v.32, p.1515-1528, 2000.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. Benefits of inoculation of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) crop with efficient and competitive *Rhizobium* strains. **Biology and Fertility of Soils**, v.39, p.88-93, 2003.

JACOB-NETO, J. **Variação estacional, concentração e níveis crítico de molibdênio nos nódulos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Seropédica: UFRRJ, 1985. 145p. Tese (Mestrado em Agronomia).

JACOB-NETO, J.; FRANCO, A.A. **Adubação de molibdênio em feijoeiro**. Seropédica: EMBRAPA-UAPNPBS, 1986. 4p. (EMBRAPA-UAPNPBS. Comunicado Técnico, 12).

JACOB-NETO, J.; THOMAS, R.J.; FRANCO, A.A. Variação estacional da concentração do molibdênio nos nódulos e demais partes da planta de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L). **Turrialba**, v.38, p.51-58, 1988.

JACOB-NETO, J.; FRANCO, A.A. Determinação do nível crítico de Mo nos nódulos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L). **Turrialba**, Costa Rica, v.39, p.215-223, 1989.

JACOB-NETO, J.; ROSSETTO, C.A.V. Concentração de nutrientes nas sementes: o papel do molibdênio. **Floresta e Ambiente**, v.5, n.1, p.171-183, 1998.

JAWORSKI, E.G. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. **Biochemical Biophysical Research. Communication**, v.43, n.6, p.1274-1279, 1971.

KVET, J.; ONDOK, J.P.; NECAS, J.; JARVIS, P.G. Methods of growth analysis. In: SESTÁK, Z.; CATSKY, J.; JARVIS, P.G. (Ed.). Plant photosynthetic production – manual of methods. The Hague: W. Junk N. V. Publishers, 1971. p.343-391.

KIPE-NOLT, J.A.; GILLER, K.E. A Field evaluation using the <sup>15</sup>N isotope dilution method of lines of *Phaseolus vulgaris* L. bred for increased nitrogen fixation. **Plant and Soil**, v.152, p.107- 114, 1993.

KUBOTA, F.Y. **Aumento dos teores de fósforo e de molibdênio em sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) via adubação foliar**. Seropédica: UFRRJ, 2006. 61p. (Dissertação de Mestrado em Ciência do Solo).

KUBOTA, F.Y.; ANDRADE NETO, A.C.; ARAÚJO, A.P.; TEIXEIRA, M.G. Crescimento e acumulação de nitrogênio de plantas de feijoeiro originadas de sementes com alto teor de molibdênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.32, n.4, p.1635-1641, 2008.

KUMARASINGHE, K.S.; DANSO, S.K.A.; ZAPATA, F. Field evaluation of N<sub>2</sub> fixation and N partitioning in climbing bean (*Phaseolus vulgaris* L.) using <sup>15</sup>N. **Biology and Fertility of Soils**, v.13, p.142-146, 1992.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1989. 201p.

MEIRELES, R.C.; REIS, L.S.; ARAÚJO, E.F.; SOARES, A.S.; PIRES, A.A.; ARAÚJO, G.A.A. Efeito da época e do parcelamento de aplicação de molibdênio, via foliar, na qualidade fisiológica das sementes de feijão. **Revista Ceres**, v.50, n.292, p.699-707, 2003.

MERCANTE, F.M.; STRALIOTTO, R.; DUQUE, F.F.; FRANCO, A.A. A inoculação do feijoeiro comum com Rizóbio. Seropédica: Embrapa CNPDS, 1992 (Comunicado Técnico, 10). 8p.

MILANE, G.L.; OLIVEIRA, J.A.; SILVA, L.H.C.; PINHO, E.V.R.V.; GUIMARÃES, R.M. Nodulação e desenvolvimento de plantas oriundas de sementes de soja com altos teores de molibdênio. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.2, p.019-027, 2008.

NASCIMENTO, M.S.; ARF, O.; SILVA, M.G. Resposta do feijoeiro à aplicação de nitrogênio em cobertura e molibdênio via foliar. **Acta Scientiarum: Agronomy**, Maringá, v.26, n.2, p.153-159, 2004.

NEVES, M.C.P.; FERNANDES, M.S.; SÁ, M.F.M. Assimilação de nitrogênio em plantas noduladas de *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* L. Walp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.17, p.689-695, 1982.

NICOLOSO, F.T.; SANTOS, O.S. Considerações sobre a fixação simbiótica de N<sub>2</sub> no feijoeiro comum. **Revista Centro de Ciências Rurais**, Santa Maria, v.20, p.51-73, 1990.

PELEGRIN, R.; MERCANTE, F.M.; OTSUBO, I.M.N.; OTSUBO, A.A. Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, p.219-226, 2009.

PESSOA, A.C.S. **Atividade de nitrogenase e redutase do nitrato e produtividade do feijoeiro em resposta a adubação com molibdênio e fósforo**, Viçosa: UFV, 1998. 151p. (Tese de doutorado em Solos e nutrição de plantas).

PESSOA, A.C.S.; RIBEIRO, A.C.; CHAGAS, J.M.; CASSINI, S.T.A. Concentração foliar de molibdênio e exportação de nutrientes pelo feijoeiro “Ouro Negro” em resposta à adubação foliar com molibdênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.24, p.75-84, 2000.

PESSOA, A.C.S.; RIBEIRO, A.C.; CHAGAS, J.M.; CASSINI, S.T.A. Atividades de nitrogenase e redutase de nitrato e produtividade do feijoeiro “Ouro Negro” em resposta à adubação foliar com molibdênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.25, p.217-224, 2001.

PIRES, A.A. **Parcelamento e época de aplicação foliar do molibdênio na cultura do feijoeiro**. Viçosa: UFV, 2003. 60p. (Tese de doutorado em Fitotecnia).

PIRES, A.A.; ARAÚJO, G.A.A.; LEITE, U.T.; MIRANDA, G.V.; BERGER, P.G.; RIBEIRO, J.M.O.; ZAMPIROLI, P.D. Parcelamento e época de aplicação foliar do molibdênio sobre a produtividade e a composição mineral da semente na cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Agronomia**, v.38, n.1, p.64-70, 2004.

PIRES, A. A.; ARAÚJO, G. A. A.; LEITE, U. T.; ZAMPIROLI, P. D.; RIBEIRO, J. M. O.; MEIRELES, R. C. Parcelamento e época de aplicação foliar do molibdênio na composição mineral das folhas do feijoeiro. **Acta Scientiarum: Agronomy**, Maringá, v.27, n.1, p.25-31, 2005.

POLIDORO, J.C. **O molibdênio na nutrição nitrogenada e na contribuição da fixação biológica de nitrogênio associada à cultura da cana-de-açúcar**. Seropédica: UFRRJ, 2001. 209p. (Tese de Doutorado em Ciência do Solo).

RENNIE, R.J.; KEMP, G.A. N<sub>2</sub>-Fixation in field beans quantified by <sup>15</sup>N isotope dilution. II. Effect of cultivars of beans. **Agronomy Journal**, v.75, p. 645-649, 1983.

RONDON, M.A.; LEHMANN, J.; RAMÍREZ, J.; HURTADO, M. Biological nitrogen fixation by common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) increases with bio-char additions. **Biology and Fertility of Soils**, v.43, p.699-708, 2007.

RUSCHEL, A.P.; VOSE, P.B.; MATSUI, E.; VICTORIA, R.L. ; TSAI SAITO, S.M. Field evaluation of N<sub>2</sub>-fixation and N-utilization by Phaseolus bean varieties determined by <sup>15</sup>N isotope dilution. **Plant and Soil**, v.65, p.397- 407, 1982.

SANTOS, O.S. Molibdênio. In: FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P. (Ed.). **Micronutrientes na agricultura**. Piracicaba: POTAFOS/CNPq, p.191-217, 1991.

SILVA, T.R.B.; GRUTKA, G.H.H.; MAIA, S.C.M.; FREITAS, L.B. Nitrogênio em cobertura no feijoeiro cultivado em plantio direto sobre diferentes coberturas vegetais. **Acta Scientiarum: Agronomy**, Maringá, v.31, n.1, p.107-111, 2009.

SILVEIRA, J.A.G.; MATOS, J.C.S.; CECATTO, V.M.; VIEGAS, R.A.; OLIVEIRA, J.T.A. Nitrate reductase activity, distribution, and response to nitrate in two contrasting Phaseolus species inoculated with Rhizobium spp. **Environmental and Experimental Botany**, v.46, p.37-46, 2001.

STRALIOTTO, R.; RUMJANEK, N.G. **Biodiversidade do rizóbio que nodula o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e os principais fatores que afetam a simbiose**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 1999. 51p. (Embrapa- CNPAB. Documentos, 94).

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004, 719 p.

TEIXEIRA, M.G.; ARAÚJO, A.P. Aumento do teor de fósforo em sementes de feijoeiro através da adubação foliar. REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 6., Salvador, 1999. **Resumos expandidos...** Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. p.756-759.

VIEIRA, R.F.; CARDOSO, E.J.B.N.; VIEIRA, C.; CASSINI, S.T.A. Foliar application of molybdenum in common beans. I. Nitrogenase and reductase activities in a soil of high fertility. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.21, p.169-180, 1998.

VIEIRA, C.; JUNIOR PAULA, T.J.; BORÉM, A. **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. 2 ed. Atual: Viçosa, 2006. 600p.

VIEIRA, R.F.; SALGADO, L.T.; ARAÚJO, R.F.; PAULA JÚNIOR, T.J. Produção de sementes de feijão ricas em molibdênio e benefícios com seu uso. Cidade Nova: Embrapa-MG, 2008. p.1-5. (EPAMIG. Circular Técnico, 12).

YOKOYAMA, L.P. **Cultivo do Feijoeiro Comum**. Sistemas de Produção, 2 ISSN 1679-8869 Versão eletrônica (Jan/2003). Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Acessado em 01/08/2009.

ZIMMERMANN, M.J.O.; TEIXEIRA, M.G. Origem e evolução. In: **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. ARAÚJO, R.S.; RAVA, C.A; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M.J.O. (Eds). Piracicaba: POTAFOS. 1996. p.57-70.

## 8. ANEXOS

### Quadro de análise variância do ensaio preliminar

**Tabela 20.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao acúmulo de biomassa de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 42 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Massa seca de folha	Massa seca de caule	Massa seca de parte aérea	Massa seca raiz	Massa seca de nódulos	Massa seca total
Repetição	1	0.468	0.085	0.952	0.101	0.010	0.576
Mo semente	1	8.892*	0.992	15.870*	0.023	0.000	14.674*
N	2	13.533**	4.947**	34.832**	1.440***	0.046	48.113**
Mo x N	2	2.949	0.311	5.116	0.035	0.005	5.897
Erro	5	0.958	0.215	1.746	0.036	0.011	2.275
CV (%)		16.47	16.96	15.24	14.83	27.83	14.61

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 21.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao número de nódulos, massa seca de um nódulo e atividade da enzima nitrato redutase (valores de quadrado médio) aos 42 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Número de nódulo	Massa de 1 nódulo	Nitrato redutase
Repetição	1	2821	0.093	44
Mo semente	1	100101*	3.095***	148964**
N	2	125932*	1.881***	35903
Mo x N	2	5676	1.247**	491
Erro	5	12598	0.035	8071
CV (%)		29.88	13.76	27.88

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 22.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao teor de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 42 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Teor de N na folha	Teor de N no caule	Teor de N na raiz	Teor de N no nódulo
Repetição	1	20584	12675	421875	604354
Mo semente	1	3097784**	404801*	105281	1561687*
N	2	190425	1588	85343	1874776*
Mo x N	2	174057	35963	14071	15794
Erro	5	80318	28949	95091	223852
CV (%)		11.62	14.02	17.70	9.42

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 23.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao conteúdo de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 42 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Conteúdo de N na parte aérea	Conteúdo de N na raiz	Conteúdo de N no nódulo	Conteúdo de N total
Repetição	1	169456	2408	1027	243390
Mo semente	1	4041441**	432	2380	4326002**
N	2	597555+	60506**	3707	925583*
Mo x N	2	320031	228	543	324306
Erro	5	106070	2778	1220	143383
CV (%)		17.96	23.20	19.41	17.05

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

## Quadro de análise variância do Experimento 1

**Tabela 24.** Resumo da análise de variância dos dados referentes à área foliar e acúmulo de biomassa de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 20 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Área foliar	Massa seca de parte aérea	Massa seca de raiz	Massa seca de um nódulo	Massa seca de nódulos	Massa seca total
Repetição	4	885.125	707.875	169.250	15098	29.300	966.3
Mo semente	1	24151.250*	7605.000**	328.050*	16359	238.050*	11424.2**
N	1	11281.250	1185.800	0.050	430418***	551.250**	1065.8
Mo x N	1	26.450	135.200	211.250	5120	198.450*	12.8
Erro	12	3498.192	469.042	63.117	11670	33.333	691.9
CV (%)		12.38	10.26	18.58	53.14	104.03	10.35

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 25.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao número de nódulo, atividade das enzimas nitrato redutase, nitrogenase e nitrogenase específica (valores de quadrado médio) aos 20 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Número de nódulos	Nitrato redutase	Nitrogenase	Nitrogenase específica
Repetição	4	310.550	1529.300	218.1	999097
Mo semente	1	1566.450*	288.800	1377.8*	1046988
N	1	4774.050**	1377.800	2508.8**	17052
Mo x N	1	1361.250*	423.200	1344.8*	121680
Erro	12	287.583	1912.433	229.3	561363
CV (%)		103.09	29.89	61.80	171.29

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 26.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao teor e conteúdo de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 20 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Teor de N na folha	Teor de N no caule	Teor de N na raiz	Conteúdo de N na parte aérea	Conteúdo de N na raiz
Repetição	4	295710	119753	117166	4507	385.450
Mo semente	1	169280	68679	6994	63394	871.200
N	1	3439522***	1969409***	1900978***	266805**	3699.200*
Mo x N	1	194439	48807	33949	31047	369.800
Erro	12	125594	93385	93405	18024	555.817
CV (%)		8.84	14.67	14.39	17.30	26.17

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 27.** Resumo da análise de variância dos dados referentes à área foliar e acúmulo de biomassa de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 34 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Área foliar	Massa seca de parte aérea	Massa seca de raiz	Massa seca de nódulos	Massa seca de um nódulo	Massa seca total
Repetição	4	6381	1079.800	431.300	3979	42874	1784
Mo semente	1	128320**	44180.000**	33.800	18850	89378	47629**
N	1	722000***	325125.000**	3225.800*	24640	470324*	373738***
Mo x N	1	5445	1.800	1548.800	6337	65780	1066
Erro	12	7601	3213.267	670.967	11886	90194	4586
CV (%)		9.03	11.15	24.25	42.96	25.20	10.57

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 28.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao número de nódulo, atividade da enzima nitrato redutase e teor de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 34 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Número de nódulos	Nitrato redutase	Teor de N na folha	Teor de N no caule	Teor de N na raiz	Teor de N no nódulo
Repetição	4	3338	524.075	94362	61651	28752	765851
Mo semente	1	661	480.200	963166*	271911*	3458	42689
N	1	67861*	4089.800**	378	255832*	145351	486720
Mo x N	1	13056	387.200	417894	405	7722	865280
Erro	12	11304	192.942	188089	29902	38017	1003090
CV (%)		45.72	23.70	14.83	8.66	12.09	22.83

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 29.** Resumo da análise de variância dos dados referentes à atividade da enzima nitrogenase e nitrogenase específica (valores de quadrado médio) aos 34 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Nitrogenase	Nitrogenase específica
Repetição	2	236385	9821
Mo semente	1	714432	199692
N	1	7397840*	659883
Mo x N	1	37408	21505
Erro	7	1256260	220581
CV (%)		84.04	88.09

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 30.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao conteúdo de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 34 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Conteúdo de N na parte aérea	Conteúdo de N na raiz	Conteúdo de N no nódulo
Repetição	4	41039	972	711.925
Mo semente	1	901850***	627	5024.450
N	1	2089811***	19096*	6808.050
Mo x N	1	24151	2880	211.250
Erro	12	13181	2563	2886.125
CV (%)		8.47	29.32	47.99

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 31.** Resumo da análise de variância dos dados referentes à área foliar e acúmulo de biomassa de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 45 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Área foliar	Massa seca de parte aérea	Massa seca de raiz	Massa seca de um nódulo	Massa seca de nódulos	Massa seca total
Repetição	4	18924	7004	1769.6*	662363	32510	11914
Mo semente	1	254702**	164893***	924.8	199600	4500	196813***
N	1	119970*	151380**	11907.2***	2011048*	819	245976***
Mo x N	1	121524*	75891*	352.8	234145	4500	83205*
Erro	12	15461	8719	427.4	396782	19205	9678
CV (%)		10.90	11.35	15.07	29.47	28.04	9.75

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 32.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao número de nódulo, atividade das enzimas nitrato redutase, nitrogenase e nitrogenase específica (valores de quadrado médio) aos 45 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Número de nódulos	Nitrato redutase	Nitrogenase	Nitrogenase específica
Repetição	4	14398	537.325	18713	1802.4
Mo semente	1	3150	2184.050+	55968+	819.2
N	1	21714	2952.450*	683020***	35616.8**
Mo x N	1	638	1638.050	41405	696.2
Erro	12	6639	494.225	13939	1130.5
CV (%)		32.70	50.13	51.06	65.04

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 33.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao teor de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 45 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Teor de N na folha	Teor de N no caule	Teor de N na raiz	Teor de N no nódulo
Repetição	4	314205	73095	33402	198908
Mo semente	1	949172*	554112***	70686	3723845*
N	1	571558	397902**	6090	3734208*
Mo x N	1	1862	42044	174	602739
Erro	12	148468	24107	17173	532974
CV (%)		10.75	7.61	7.85	15.99

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 34.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao conteúdo de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 45 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Conteúdo de N na parte aérea	Conteúdo de N na raiz	Conteúdo de N no nódulo
Repetição	4	104701	8993**	8090
Mo semente	1	3867601***	7334+	18788+
N	1	102674	37932***	12550
Mo x N	1	672344	451	1201
Erro	12	191436	1633	4160
CV (%)		18.04	17.49	28.67

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 35.** Resumo da análise de variância dos dados referentes à área foliar e acúmulo de biomassa de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 55 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Área foliar	Massa seca de parte aérea	Massa seca de raiz	Massa seca de um nódulo	Massa seca de nódulos	Massa seca total
Repetição	4	12560	10696	572.6	655971	37965	10742
Mo semente	1	250208*	474012***	45.0	123874	28880	459348***
N	1	36551	260148***	15235.2***	6407120	117045*	444914***
Mo x N	1	1328	23188	51.2	564480	43805	19531
Erro	12	11707	13046	359.7	397020	22646	16997
CV (%)		11.31	9.34	14.06	28.86	45.07	9.37

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 36.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao número de nódulo, atividade das enzimas nitrato redutase, nitrogenase e nitrogenase específica (valores de quadrado médio) aos 55 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Número de nódulos	Nitrato redutase	Nitrogenase	Nitrogenase específica
Repetição	4	6055	140.1	4623	464.7
Mo semente	1	22045	924.8*	8080	0.2
N	1	387	583.2	121368**	24360.2
Mo x N	1	5917	304.2	25490	245.0
Erro	12	8723	181.1	9517	603.7
CV (%)		57.51	32.90	89.58	57.54

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 37.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao teor de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 55 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Teor de N na folha	Teor de N no caule	Teor de N na raiz	Teor de N no nódulo
Repetição	4	61161	131812*	100700**	321209
Mo semente	1	871531**	7031	8653	346371
N	1	2545411***	287280*	23943	5157217*
Mo x N	1	8201	110558	22178	235011
Erro	12	74398	36883	17454	580557
CV (%)		8.55	19.32	8.09	17.82

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 38.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao conteúdo de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 55 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Conteúdo de N na parte aérea	Conteúdo de N na raiz	Conteúdo de N no nódulo
Repetição	4	117255	6888*	8687
Mo semente	1	4715176***	980	7960
N	1	212798	50803***	5611
Mo x N	1	5951	218	15848
Erro	12	146189	1771	5458
CV (%)		14.41	18.85	51.50

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 39.** Resumo da análise de variância dos dados referentes à floração das plantas (valores de quadrado médio) dos 34 e 45 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Floração
Repetição	9	0,944
Mo semente	1	10,000**
N	1	0,900
Mo x N	1	0,900
Erro	27	0,878
CV (%)		2,47

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 40.** Resumo da análise de variância dos dados referentes as taxas de crescimento (valores de quadrado médio) intervalo entre as coletas dos 20 aos 34 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Taxa de crescimento absoluto	Taxa de assimilação líquida
Repetição	4	2485	7110
Mo semente	1	6337	500
N	1	170755***	133171**
Mo x N	1	442	1125
Erro	12	3379	7699
CV (%)		21.07	22.55

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 41.** Resumo da análise de variância dos dados referentes as taxas de crescimento (valores de quadrado médio) intervalo entre as coletas dos 34 aos 45 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Taxa de crescimento absoluto	Taxa de assimilação líquida
Repetição	4	8073	4960
Mo semente	1	41861*	3645
N	1	10904	47629**
Mo x N	1	54392*	11616
Erro	12	6808	3513
CV (%)		24.60	23.21

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 42.** Resumo da análise de variância dos dados referentes as taxas de crescimento (valores de quadrado médio) intervalo entre as coletas dos 45 aos 55 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Taxa de crescimento absoluto	Taxa de assimilação líquida
Repetição	4	17251	11776
Mo semente	1	45220	490
N	1	24151	1361
Mo x N	1	18180	20672
Erro	12	24990	13751
CV (%)		45.51	44.72

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

## Quadro de valores médios do tratamento extra

**Tabela 43.** Área foliar, massa de parte aérea, massa de raiz, massa total, massa de nódulos, massa de 1 nódulo, número de nódulos, massa de vagem, atividade das enzimas nitrato redutase e nitrogenase e nitrogenase específica de plantas de feijoeiro, originadas de sementes com alto teor de Mo que foram inoculadas com adição de molibdênio no solo aos 20, 34, 45 e 55 dias após emergência.

Mo no solo (mg kg <sup>-1</sup> )	20 dias após emergência	34 dias após emergência	45 dias após emergência	55 dias após emergência
	Alto Mo	Alto Mo	Alto Mo	Alto Mo
	Área foliar (cm <sup>2</sup> planta <sup>-1</sup> )			
0	488	872	1254	1034
0,5	449	898	1220	1111
	Massa seca de parte aérea (g planta <sup>-1</sup> )			
0	2,20	4,28	8,88	12,97
0,5	2,02	4,61	8,86	14,58
	Massa seca de raiz (g planta <sup>-1</sup> )			
0	0,50	1,02	1,23	1,10
0,5	0,50	0,96	1,06	1,01
	Massa seca total (g planta <sup>-1</sup> )			
0	2,72	5,60	10,62	14,25
0,5	2,54	5,86	10,30	15,68
	Massa de nódulos (mg planta <sup>-1</sup> )			
0	17	302	501	173
0,5	21	287	373	91
	Massa seca de 1 nódulo (mg)			
0	395 b	1163	1812	1528
0,5	551 a	1236	1675	1494
	Número de nódulos (planta <sup>-1</sup> )			
0	49	271	275	116
0,5	39	231	246	65
	Massa seca de vagem (g planta <sup>-1</sup> )			
0	nd	nd	nd	4,30
0,5	nd	nd	nd	5,02
	Nitrato redutase (μmol NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> g folha <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )			
0	1,37	0,54	0,34 b	0,57
0,5	1,28	0,50	0,67 a	0,67
	Nitrogenase (μmol h <sup>-1</sup> planta <sup>-1</sup> )			
0	0,52	11,8	5,14	1,31
0,5	0,72	9,8	3,20	0,87
	Nitrogenase específica (μmol g nódulo <sup>-1</sup> )			
0	32	42	10,6	7,4
0,5	34	43	7,8	8,3

Médias desprovidas de letra não diferem pelo teste *F* a 5%, nd – não determinado.

**Tabela 44.** Teor de N na folha, caule, raiz, nódulo, vagem e conteúdo de N na parte aérea, raiz, nódulo e vagem de plantas de feijoeiro, originadas de sementes com alto teor de Mo que foram inoculadas com adição de molibdênio no solo aos 20, 34, 45 e 55 dias após emergência.

Mo no solo (mg kg <sup>-1</sup> )	20 dias após emergência	34 dias após emergência	45 dias após emergência	55 dias após emergência
	Alto Mo	Alto Mo	Alto Mo	Alto Mo
		Teor de N na folha (mg g <sup>-1</sup> )		
0	34,0	32,8	39,6	37,4
0,5	33,9	35,7	41,5	31,2
		Teor de N no caule (mg g <sup>-1</sup> )		
0	16,6	22,2	23,9	10,6
0,5	17,0	22,0	22,5	11,3
		Teor de N na raiz (mg g <sup>-1</sup> )		
0	17,6	14,9	17,1 a	10,6
0,5	19,6	16,2	15,9 b	11,3
		Teor de N no nódulo (mg g <sup>-1</sup> )		
0	nd	48,0	56,0	45,4
0,5	nd	50,5	50,1	49,6
		Teor de N na vagem (mg g <sup>-1</sup> )		
0	nd	nd	nd	22,9
0,5	nd	nd	nd	26,0
		Conteúdo de N na parte aérea (mg planta <sup>-1</sup> )		
0	68	128	298	323
0,5	62	148	305	348
		Conteúdo de N na raiz (mg planta <sup>-1</sup> )		
0	8,7	15	21	18
0,5	9,9	16	17	16
		Conteúdo de N no nódulo (mg planta <sup>-1</sup> )		
0	nd	14	29 a	7,8
0,5	nd	15	19 b	4,5
		Conteúdo de N vagem (mg planta <sup>-1</sup> )		
0	nd	nd	nd	98 b
0,5	nd	nd	nd	131 a

Médias desprovidas de letra não diferem pelo teste *F* a 5%, nd – não determinado.

## Quadro de análise variância do Experimento 2

**Tabela 45.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao acúmulo de biomassa de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 38 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Massa seca de folha	Massa seca de caule	Massa seca de parte aérea	Massa seca raiz	Massa seca de nódulos	Massa seca de um nódulo
Repetição	4	10899	1347	19208	402,825	18619*	118652
Mo semente	1	32805*	806	43992+	20,000	107458**	566834*
N	1	253125***	12251**	377026**	2880,000*	62944**	25276
Mo x N	1	3645	14	3226	156,800	8989	3726
Erro	12	6317	1173	10918	355,225	4967	82942
CV (%)		10,31	10,36	9,48	13,33	18,80	21,25

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 46.** Resumo da análise de variância dos dados referentes a massa de folhas senescentes, número de nódulos, massa total, atividade das enzimas nitrato redutase, nitrogenase e nitrogenase específica (valores de quadrado médio) aos 38 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Massa seca de folhas senescentes	Número de nódulos	Massa seca total	Nitrato redutase	Nitrogenase	Nitrogenase específica
Repetição	4	165868	24141,700*	25203	9164	5902	188435
Mo semente	1	319539+	9202,050	61162*	57031	45601*	11858
N	1	20608	45792,450*	412419***	19845	195426**	375106*
Mo x N	1	24922	266,450	6125	40500	15961	5814
Erro	12	70964	5311,900	11766	19799	7765	67989
CV (%)		88,15	25,32	8,47	26,86	31,32	33,44

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 47.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao teor de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 38 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Teor de N na folha	Teor de N no caule	Teor de N Na raiz	Teor de N no nódulo
Repetição	4	4837	10354	67463	54133
Mo semente	1	1386538***	151902***	5120	2480192**
N	1	79632	1862	379226**	3287794**
Mo x N	1	353248**	35364+	15015	2398
Erro	12	37757	8005	27500	250671
CV (%)		8,81	8,80	10,41	10,48

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 48.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao conteúdo de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 38 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Conteúdo de N na folha	Conteúdo de N no caule	Conteúdo de N na raiz	Conteúdo de N no nódulo	Conteúdo de N total
Repetição	4	53262	497	1752	4801*	69031
Mo semente	1	1544012***	22178**	245	49402***	2655747***
N	1	1734016***	16936**	209185**	34611***	2046720***
Mo x N	1	186438	2163	1345	4090	335923+
Erro	12	59926	1795	2056	1453	79289
CV (%)		14,23	12,60	19,97	20,72	11,41

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 49.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao acúmulo de biomassa de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 51 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Massa seca de folha	Massa seca de caule	Massa seca de parte aérea	Massa seca raiz	Massa seca de nódulos	Massa seca de um nódulo
Repetição	4	2097	2415	16581	52,075	35104	681630
Mo semente	1	72722*	858	584136**	1,800	9990	7643425***
N	1	273312**	131058***	1298461***	9945,800**	707256**	1601780+
Mo x N	1	480	4351	9768	12,800	21846	590992
Erro	12	12030	3011	33296	444,008	39586	355299
CV (%)		15,42	10,55	11,65	12,37	21,04	20,59

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 50.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao número de nódulos, massa de folhas senescentes, massa de vagem, massa total, atividade das enzimas nitrato redutase, nitrogenase e nitrogenase específica (valores de quadrado médio) aos 51 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Número de nódulos	Massa seca de folhas senescentes	Massa seca de vagem	Massa seca total	Nitrato redutase	Nitrogenase	Nitrogenase específica
Repetição	4	20997	122841	2415	17024	3081	234,8	171,8
Mo semente	1	70330*	96883	858	601004**	300125***	9724,1**	13676,5***
N	1	20866	170386	131058***	1331796***	1882	13261,3***	5746,1***
Mo x N	1	5645	294274	4351	12054	11424	4176,1*	6090,1***
Erro	12	8385	200151	3011	33936	9531	523,8	270,1
CV (%)		26,03	36,18	10,55	10,06	30,14	34,86	25,15

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 51.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao teor de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 51 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Teor de N na folha	Teor de N no caule	Teor de N na raiz	Teor de N no nódulo	Teor de N na vagem	Teor de N folha senescente
Repetição	4	22668	3804	17681*	124977	125563	54617
Mo semente	1	1909620***	159311***	33949*	514563	334887*	28728
N	1	43431	20034	283220***	4829479**	3075	16474
Mo x N	1	198403	54	35955*	30733	274	2205
Erro	12	91646	7869	3937	292452	52689	113779
CV (%)		14,79	11,43	4,07	11,75	8,20	27,71

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 52.** Resumo da análise de variância dos dados referentes ao conteúdo de N de cada porção vegetal (valores de quadrado médio) aos 51 dias após emergência.

Fonte de variação	GL	Conteúdo de N na folha	Conteúdo de N no caule	Conteúdo de N na raiz	Conteúdo de N no nódulo	Conteúdo de N na vagem	Conteúdo de N folha senescente	Conteúdo de N total
Repetição	4	22225	2421	828	8263	41430	2068	150433
Mo semente	1	2054405***	49900***	1378	12202	2183283***	289	10776588***
N	1	903975***	129444***	60720***	356445***	530728***	4322	2850880***
Mo x N	1	4560	6516*	1155	744	1549	4033	12751
Erro	12	33867	988	1371	11795	27172	5770	73466
CV (%)		12,64	7,76	13,96	24,40	17,49	50,81	7,71

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 53.** Resumo da análise de variância dos dados referentes à floração das plantas (valores de quadrado médio).

Fonte de variação	GL	Floração
Repetição	9	0,544
Mo semente	1	8,100***
N	1	2,500*
Mo x N	1	1,600
Erro	27	0,567
CV (%)		2,13

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.

**Tabela 54.** Resumo da análise de variância da contribuição da FBN para o N acumulado nas folhas (valores de quadrado médio) aos 38 e 51 dias após emergência (DAE).

Fonte de variação	GL	%FBN (38 DAE)	%FBN (51 DAE)
Repetição	4	53590	55946
Coleta	1	99546	191688*
Mo semente	1	294031**	282744*
Col x Mo	1	100394	88711
Erro	12	31429	32408
CV (%)		81,19	83,73

\*, \*\*, \*\*\* Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo teste *F*.