

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
SEMENTES**



Dissertação

**TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA COM MOLIBDÊNIO E INOCULANTE:
DESEMPENHO AGRONÔMICO E ATIVIDADE DA NITRATO REDUTASE**

Ewerton Gewehr

Pelotas, 2015

Ewerton Gewehr

**TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA COM MOLIBDÊNIO E INOCULANTE:
DESEMPENHO AGRONÔMICO E ATIVIDADE DA NITRATO REDUTASE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área do conhecimento: Ciência e Tecnologia de Sementes).

Orientadora: Prof. Dra. Lilian Vanussa Madruga de Tunes

Co-orientador: Dr. Geri Eduardo Meneghello

Co-orientador: Dr. Luciano do Amarante

Pelotas, 2015

Ewerton Gewehr

**TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA COM MOLIBDÊNIO E INOCULANTE:
DESEMPENHO AGRONÔMICO E ATIVIDADE DA NITRATO REDUTASE**

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 02/03/2015

Banca examinadora:

.....
Dra. Andreia da Silva Almeida
(FAEM/UFPEL)

.....
Dra. Jucilayne Fernandes Vieira
(FAEM/UFPEL)

.....
Dr. Geri Eduardo Meneghello
(FAEM/UFPEL, Co-orientador)

.....
Prof. Dra. Lilian Vanusa Madruga de Tunes
(FAEM/UFPEL, Orientadora)

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

G292t Gewehr, Ewerton

Tratamento de sementes de soja com molibdênio e inoculante : desempenho agrônômico e atividade da nitrato redutase / Ewerton Gewehr ; Lilian Vanussa Madruga de Tunes, orientadora ; Geri Eduardo Meneghello, Luciano do Amarante, coorientadores. — Pelotas, 2015.

68 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2015.

1. Glycine Max L. 2. Molibdato de sódio. 3. Bradyrhizobium japonicum. 4. Atividade enzimática. 5. Qualidade de semente. I. Tunes, Lilian Vanussa Madruga de, orient. II. Meneghello, Geri Eduardo, coorient. III. Amarante, Luciano do, coorient. IV. Título.

CDD : 633.34

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Elton Rudi Gewehr e Tânia Maria Gewehr meu irmão Elton Gewehr Junior minha noiva Maristela dos Santos Melo e demais familiares, que contribuíram para que esse sonho se tornasse realidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por esta sempre do meu lado concebendo proteção e sabedoria, para vencer as dificuldades e os obstáculos da vida.

Aos meus pais, Elton Rudi Gewehr e Tânia Maria Gewehr, por todo amor, dedicação e carinho, por terem me apoiado em mais uma etapa da minha vida, sempre estando presente em todos os momentos da minha caminhada até aqui, meu muito obrigado.

A meu irmão por estar sempre presente na minha vida, disposto a ajudar nas horas em que solicitei, pelo companheirismo e amizade que sempre esteve presente.

A minha noiva Maristela dos Santos Melo, por estar sempre ao meu lado me dando apoio em todos os momentos desta caminhada, sempre disposta a me ajudar, pelo amor, carinho, compreensão e pela paciência nos momentos difíceis. Meu muito obrigado meu amor.

A Professora amiga e orientadora Dra. Lilian Madruga de Tunes, pela paciência, coerência, clareza e dedicação em seus ensinamentos sempre disposta a atender minhas necessidades e dúvidas.

Ao co-orientador Dr. Geri Eduardo Meneghello pela amizade, dedicação e paciência, sempre estando disposto a ajudar, dando apoio no decorrer do trabalho.

Ao professor Dr. Luciano do Amarante pelos seus ensinamentos e apoio no decorrer do trabalho.

Aos colegas, Otávio de Oliveira Correa, Cassyo Araujo Rufino, Daniel Fonseca, Anna Suñé, Henrique Chagas, Luís Konzen, Gabriel Duarte, Rodrigo Rodrigues, Mateus Tessmann, Guilherme Acosta, Filipe Mattos, Gustavo, Murilo Bortolotti e Douglas, pela ajuda na realização do trabalho e acima de tudo pela amizade de todos.

As funcionária e amigas do laboratório do Programa de PósGraduação em Ciência e Tecnologia de Sementes.

Ao funcionário Bandeira pela colaboração e atenção, sempre disposto a ajudar quando solicitado.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, pelos conhecimentos transmitidos e experiências repassadas ao longo do curso.

E a todos os colegas do programa pela amizade e companheirismo, e a todos que de uma forma ou de outra contribuíram para a conclusão desse trabalho.

Obrigado.

RESUMO GERAL

Gewehr, Ewerton. **Tratamento de sementes de soja com molibdênio e inoculante: desempenho agrônômico e atividade da nitrato redutase** 2015. 68f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Sementes) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

O objetivo do trabalho foi analisar o efeito da aplicação do molibdênio associado ao inoculante via tratamento de sementes em soja e sua função nos caracteres agrônômicos, qualidade fisiológica e atividade da enzima nitrato redutase. O experimento foi em delineamento de blocos casualizados em um modelo bifatorial com quatro repetições, onde o primeiro fator de tratamento foram as doses de molibdênio (Mo) utilizando como fonte molibdato de Sódio (solução 127g.L^{-1}). As doses que constituíram os tratamentos foram: zero; 16; 32; 48; 64 g.100kg^{-1} de sementes combinadas com o segundo fator de tratamento que foi a presença e a ausência de inoculante, via tratamento de sementes em soja, no período de safra 2013/2014. No primeiro trabalho o experimento foi conduzido até a fase de maturação de campo, sendo posteriormente realizado a avaliação dos caracteres agrônômicos e a qualidade fisiológica das sementes produzidas. No segundo trabalho, durante a condução do experimento, foram realizadas coletas de folhas em diferentes estádios fenológicos para avaliação da atividade de enzima nitrato redutase. Os resultados das análise da atividade da nitrato redutase foi correlacionada com os dados de caracteres agrônômicos e de qualidade fisiológica de sementes obtidos no primeiro capítulo. No primeiro trabalho, verificou-se, que a adição de inoculante proporciona uma melhora na qualidade fisiológica de sementes, em relação ao vigor das sementes produzidas, evidenciado uma maior porcentagem no teste de envelhecimento acelerado, além de proporcionar um aumento no comprimento e massa seca de parte aérea e de raiz. Também influenciou positivamente na altura de planta, número de legumes por planta, número de sementes por planta e peso de mil sementes. As sementes produzidas mediante a aplicação de molibdênio na semeadura, também promoveu benefícios no vigor das sementes, contribuindo para um crescimento linear do comprimento e massa seca de parte aérea e raiz, conforme o aumento da dose. Além disso, o aumento da dose de molibdênio afetou de forma benéfica os caracteres agrônômicos, comprovando um maior peso de mil semente ao final do ciclo da cultura, e uma maior altura de planta. No segundo trabalho, verificou-se que o molibdênio com a presença de inoculante influencia positivamente na atividade da enzima nitrato redutase, tanto no estágio vegetativo como no reprodutivo. As doses de molibdênio sem a presença do inoculante proporcionam um aumento crescente da atividade da enzima nitrato redutase até a maior dose (64 g Mo. 100 kg^{-1} de semente). A atividade da enzima nitrato redutase apresenta uma correlação positiva com os testes de vigor e com os caracteres agrônômicos.

Palavras-chave: *Glycine Max* L., molibdato de sódio, *Bradyrhizobium japonicum*, atividade enzimática, qualidade de semente.

ABSTRACT GERAL

Gewehr, Ewerton. **Treatment of soybean seeds with molybdenum and inoculant: agronomic performance and activity of nitrate reductase.** 2015. 68f. Dissertation (Master in Seed Science and Technology) - Graduate Program in Seed Science and Technology, Faculty of Agronomy Eliseu Maciel, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2015.

The objectives of this work were to analyze and compare the effects of molybdenum associated with inoculant as seed treatment in soybeans and its role in agronomic performance, physiological quality and nitrate reductase enzyme activity. The experiment was arranged with in a randomized complete block design with four replications. The treatments were set up in a factorial design, where the first treatment factor were the doses of molybdenum (Mo) from source of sodium molybdate (127g.L^{-1} solution). The following doses were used: zero; 16; 32; 48; 64 g.100kg^{-1} and these doses were combined with the second seed treatment factor. Therefore, the second factor was the presence and absence of inoculant via soybean seed treatment in the crop season 2013/2014. In the first study, the experiment was conducted until crop maturation phase, and subsequently were performed evaluation of agronomic performance and physiological seed quality. In the second study, during the experiment, leaf samples were taken at different growth stages to evaluate the nitrate reductase enzyme activity. The results of nitrate reductase activity were correlated with the data of agronomic performance and physiological quality of seeds obtained in the first chapter. In the first study, it was found that the addition of inoculant provides an improvement in the physiological quality of seed vigor compared to seeds produced, increase percentage of germinated seeds in the accelerated aging test as well as providing an increase in the length and mass of shoot and root. Also had a positive effect on plant height, number of pods per plant, seed number per plant and thousand seed weight. The seeds produced by molybdenum application at sowing also promoted benefits in seed vigor, contributing to a linear increase in length and dry weight of shoot and root, with increasing dose. Furthermore, increasing doses of molybdenum provide beneficial effects on agronomic characters, showing a higher thousand seed weight at the end of the cycle, and a larger plant height. In the second study, it was found that molybdenum in the presence of inoculant show positive influence on the nitrate reductase enzyme activity in the vegetative and reproductive stages. The molybdenum doses without the presence of inoculant provide a growing increase in nitrate reductase activity up to the highest dose (64 g Mo. 100 kg⁻¹ seed). The nitrate reductase activity show a positive correlation with vigor tests and agronomic characters.

Keywords: *Glycine max* L., sodium molybdate, *Bradyrhizobium japonicum*, enzyme activity, seed quality.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Resumo da análise de variância dos efeitos de doses de molibdênio associado à aplicação de inoculante em sementes de soja expressão na qualidade fisiológica e caracteres agrônômicos das sementes produzidas. UFPel, 2015.....	29
TABELA 2.	Caracteres agrônômicos: altura de planta (AP); número de legumes por planta (NLP); número de sementes por planta (NSP); submetidas a diferentes doses de molibdênio na presença ou ausência de inoculante via tratamento de sementes antes da semeadura. UFPel, 2015.....	30
TABELA 3.	Qualidade Fisiológica de semente de soja produzida: primeira contagem de germinação (PCG); germinação (G); teste de frio (TF); envelhecimento acelerado (EA); emergência a campo (EC); submetida a diferentes doses de molibdênio na presença ou ausência de inoculante via tratamento de sementes. UFPel, 2015.....	33
TABELA 4.	Qualidade fisiológica de semente de soja produzida: comprimento de parte aérea (CPA); comprimento de raiz (CR); massa seca da parte aérea (MSPA); massa seca da raiz (MSR); submetidas a diferentes doses de molibdênio na presença ou ausência de inoculante via tratamento de sementes antes da semeadura. UFPel, 2015.....	35
TABELA 5.	Quadrado médio da análise de variância dos efeitos de doses de molibdênio associado à aplicação de inoculante em sementes de soja na expressão da atividade da enzima nitrato redutase, obtidas no estágio vegetativo (V3) e reprodutivo (R5). UFPel, 2015.....	43
TABELA 6.	Atividade da enzima nitrato redutase obtida no estágio vegetativo V3 (ANR V3) e reprodutivo R5 (ANR R5) de plantas oriundas de sementes tratada com diferentes doses de molibdênio com presença e ausência de inoculante. UFPel, 2015.....	44

TABELA 7.	Correlação linear entre as variáveis relacionadas à atividade da enzima nitrato redutase e a qualidade fisiológica de sementes produzidas. UFPel, 2015.....	48
TABELA 8.	Correlação linear entre as variáveis relacionadas à atividade da enzima nitrato redutase e os caracteres agronômicos de soja. UFPel, 2015.....	49

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** Caracteres agronômicos: altura de plantas (AP); submetidas a diferentes doses de molibdênio via tratamento de sementes e peso de mil sementes (PMS) provindas de plantas tratadas com diferentes doses de molibdênio na ocasião da semeadura. UFPel, 2015..... 32
- FIGURA 2.** Massa seca da parte aérea MSPA (A); massa seca da raiz MSR (B); submetida a diferentes doses de molibdênio via tratamento de sementes antes da semeadura. UFPel, 2015..... 36
- FIGURA 3.** (A) - Atividade da enzima nitrato redutase obtida no estágio vegetativo (V3); (B) - Atividade da enzima nitrato redutase obtida no estágio reprodutivo (R5) de plantas oriundas de sementes tratadas com diferentes doses de molibdênio com presença e ausência de inoculante. UFPel, 2015..... 47

SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	6
ABSTRACT GERAL.....	7
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1. A cultura da soja.....	13
2.2. Qualidade de sementes e caracteres agronômicos.....	15
2.3. Tratamento de sementes.....	17
2.4. Molibdênio e sua função na atividade da enzima nitrato redutase.....	18
2.5. Importância do inoculante nas sementes.....	22
3- CAPÍTULO I - Tratamento de sementes de soja com molibdenio presença e ausência de inoculante: caracteres agronômicos e qualidade fisiológica.....	24
3.1. INTRODUÇÃO.....	24
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.2.1. Caracteres agronômicos.....	27
3.2.2- Determinações da qualidade fisiológica.....	27
3.2.3. Procedimentos estatísticos.....	28
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
3.4. CONCLUSÕES.....	37
4. CAPÍTULO II - Doses de molibdênio associado ao inoculante: atividade da enzima nitrato redutase em soja correlacionadas com qualidade fisiológica de sementes e caracteres agronômicos.....	38
4.1 INTRODUÇÃO.....	38
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	40
4.2.1 Coleta de material para análise.....	41
4.2.2 Atividade da enzima nitrato redutase.....	42
4.2.3. Procedimentos estatísticos.....	42
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
4.4. CONCLUSÕES.....	50
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	51
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
Anexo.....	68

1. INTRODUÇÃO GERAL

A cultura da soja (*Glycine Max L.*) tem um grande valor social e econômico, sendo considerado um dos cultivos de maior importância mundial, participando da alimentação humana e animal, sendo fonte de proteínas, lipídios (óleo), minerais e carboidratos. Além disso, seus diversos derivados são destinados tanto para o mercado interno como externo, agregando rendimentos ao agricultor, o que faz dela a commodity mais produzida no Brasil, resultando na geração de empregos nos diversos setores da economia (EMBRAPA, 2006).

Desta forma, a elevada produção nacional está vinculada a boas práticas de manejo de cultivo, assim como, ao uso de sementes de alta qualidade. Assim, possuem capacidade para produzir, de maneira consistente e rápida, uma população adequada e uniforme de plantas, vigorosas e saudáveis, em condições variáveis de solo e clima.

O contínuo crescimento demográfico gera uma demanda para melhorar a tecnologia aplicada aos diversos ramos de produção de alimentos. O uso de nutrientes minerais e sementes de boa qualidade constituem prática expressiva para o aumento de produtividade. Logo, o uso de tecnologias para o aumento da produtividade, a nutrição das plantas, especialmente a utilização de micronutrientes na cultura da soja, através do recobrimento de sementes, vem contribuindo para a sustentabilidade do atual sistema de produção. Neste contexto, a incorporação de novas tecnologias vem proporcionando grandes incrementos de produtividade, estando as mais recentes relacionadas à indústria de sementes, sendo que o tratamento de sementes ao longo dos anos teve grande participação para o incremento de produtividade (GOULART e MELO FILHO 2002).

De acordo com a atual legislação brasileira, é denominado de “tratamento de sementes” o processo de revestimento que emprega a aplicação de agrotóxicos, corantes e outros aditivos, sem que ocorra aumento significativo do tamanho e peso, ou alteração de formato das sementes (BRASIL, 2005).

O recobrimento de sementes está entre os tratamentos mais interessantes e potencialmente benéficos para realçar o desempenho das sementes (DELOUCHE, 2005). Fato esse, que contribui com o produtor para melhorar o crescimento e

desenvolvimento das plântulas, com possibilidade da utilização de inoculantes e de micronutrientes como o molibdênio (Mo) nas sementes.

A adição de inoculantes no cultivo de soja se torna cada vez mais necessária, pois as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* tem importante função no ciclo do nitrogênio. As bactérias se associam ao sistema radicular e estabelecem uma importante simbiose, a partir da qual fornece o nitrogênio de que a planta necessita por meio de estruturas especializadas nas raízes (nódulos), nos quais ocorre o processo de fixação biológica de nitrogênio (MATA et al., 2011).

Neste contexto, verifica-se que com o auxílio destas bactérias, a cultura possibilita que a necessidade de nitrogênio seja totalmente suprida através da fixação biológica. Entretanto, para que esse processo seja eficiente é necessária que a planta esteja em bom estado nutricional. Estudos mostram que o aumento na produtividade da soja e, por consequência, a diminuição do custo relativo no uso desses micronutrientes, pela sua influência na fixação simbiótica de nitrogênio, e a expectativa de ganhos em escala, têm motivado produtores a utilizar esses elementos na adubação da cultura (CERETTA et al., 2005).

Desta forma, pode-se verificar que os micronutrientes são elementos químicos essenciais para o crescimento das plantas e são exigidos em quantidades muito pequenas, embora sua participação seja em menor escala, a falta pode resultar em perdas significativas de produção. Estudos comprovam que mesmo que as plantas necessitem apenas de pequenas quantidades de molibdênio, vários solos brasileiros não suprem essa demanda, onde o disponível varia de 0,1 a 0,25 mg.dm⁻³ (TIRITAN et al, 2007).

A importância do molibdênio para a planta está relacionado, principalmente com a fixação biológica de nitrogênio, atuando como co-fator na atividade enzimática. A redutase do nitrato catalisa o primeiro passo enzimático da assimilação de nitrogênio pelas plantas superiores por meio da redução do nitrato (NO³⁻) a nitrito (NO²⁻), sendo um processo biológico essencial, por ser a principal rota pela qual o nitrogênio inorgânico é incorporado em compostos orgânicos (FALCÃO, 2006). A redução de nitrato ocorre no citossol e envolve a ação da enzima nitrato redutase, produzindo nitrito, o qual adentra aos plastídios nas raízes ou cloroplastos em folhas (DONATO et al., 2004). Essa enzima é uma flavoproteína formada por duas subunidades idênticas, com três grupos - FAD, heme e um complexo constituído entre o molibdênio (Mo) e uma molécula orgânica a pterina

(Mendel & Stallmeyer, 1995; Campbell, 1999), Portanto, a atuação da enzima nitrato redutase é de fundamental importância na incorporação de nitrogênio inorgânico em moléculas orgânicas complexas. Sendo assim, um importante auxílio para obter ganhos significativos de produção.

Através dessas constatações, o presente trabalho objetivou-se em analisar o efeito da aplicação do molibdênio associado ao inoculante via tratamento de sementes em soja e sua função nos caracteres agronômicos, qualidade fisiológica e atividade da enzima nitrato redutase.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A cultura da soja

A soja é uma planta pertencente ao reino Plantae, divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, ordem Fabales, família Fabaceae (Leguminosae), subfamília Faboideae (Papilionoideae), gênero *Glycine*, espécie *Glycine max* e forma cultivada *Glycine max* (L.) Merrill (SEDIYAMA, 2009).

A soja tem origem na China e foi introduzida no Brasil em 1882 no Estado da Bahia (GONÇALVES et al., 2007). O rápido desenvolvimento da soja no País, a partir de 1960, fez surgir um novo e agressivo setor produtivo, com alta demanda por tecnologias. Na década seguinte, a soja se consolidou como a principal cultura do agronegócio brasileiro, passando de 1,5 milhões de toneladas em 1970 para mais de 15 milhões de toneladas em 1979. Esse crescimento se deu, não apenas ao aumento da área plantada (1,3 para 8,8 milhões de hectares), mas, também, ao expressivo incremento da produtividade (1,14 para 1,73 t ha⁻¹), consequência às novas tecnologias disponibilizadas aos produtores pela pesquisa brasileira, com destaque para as novas cultivares adaptadas à condição de baixa latitude do centro oeste (EMBRAPA, 2004).

É uma planta anual, herbácea, ereta, autógama, apresentando variabilidade genética para as características morfológicas como: a altura, que pode variar de 30 a 200 cm, apresentando mais ou menos ramificações, quanto ao ciclo, que pode levar de 75 para as mais precoces e 200 dias para as mais tardias, sendo que, estas características podem ser influenciadas pelo ambiente (SEDIYAMA, 2009).

Durante todo o ciclo da planta são distinguidos quatro tipos de folhas: cotiledonares, folhas primárias, folhas trifolioladas e prófilos simples. Sua cor é verde pálida a verde escura e possuem formato e posicionamento diferentes dependendo da cultivar. As flores de soja podem apresentar coloração branca, púrpura diluída ou roxa, de 3 até 8mm de diâmetro e ocorrem em racemos terminais ou axilares, variando de 2 a 35 por racemo. A planta de soja é considerada de dias curtos, ou seja, precisa de um mínimo de horas de escuro para indução floral. O fruto é do tipo legume e pode chegar a 400 legumes por planta, com número de sementes variando de um a cinco por legume. Contudo, a maioria das cultivares apresentam legumes com duas ou três sementes. Suas sementes possuem variações quanto à forma (ovais, globosas ou elípticas), tamanho, cor das sementes e do hilo (SEDIYIAMA, 2009).

O caule é herbáceo, ereto, pubescente e ramificado, desenvolvendo-se a partir do eixo embrionário, após o início da germinação. Sua terminação apresenta racemos florais, em variedades de crescimento determinado, já em variedades de crescimento indeterminado a terminação não apresenta racemos florais terminal (MUNDSTOCK e THOMAS, 2005). O sistema radicular da soja é constituído de um eixo principal e grande número de raízes secundárias, sendo classificado com um sistema difuso. Nelas se encontram os nódulos, resultantes da simbiose com bactérias do gênero *Bradirhizobium*, que fixam o nitrogênio do ar presente no solo, repassando para planta na forma de nitrato em troca de hidratos de carbono, reduzindo os gastos com adubação nitrogenada (MASCARENHAS et al., 2005).

Atualmente, segundo o levantamento para a safra mundial de soja, estima-se uma produção de aproximadamente 314,4 milhões de toneladas para 2014/15, contra 285,3 milhões de toneladas de 2013/14. (USDA, 2015).

A produção de soja no Brasil é crescente, o que explica um crescimento na área semeada da oleaginosa que atinge 31.6 milhões hectares na safra 2014/15, apresentando um incremento de 4,8% quando comparado a safra anterior, um recorde na área cultivada. Os efeitos desse aumento da área semeada refletiram para uma estimativa de produção de 95.9 milhões toneladas, um incremento de 11,4% (CONAB, 2015).

Dentro deste contexto, a Região Centro-Sul (Centro-Oeste, Sudeste e Sul) produziu aproximadamente 76 milhões de toneladas na safra 2013/14, com uma expectativa de produção 83 milhões de tonelada para a próxima safra agrícola. Esse

aumento advém tanto do aumento de área (4,4%), quanto de produtividade (5,7%) (CONAB, 2015).

2.2. Qualidade de sementes e caracteres agronômicos

As sementes de soja é um dos insumos de grande importância na agricultura, sendo sua qualidade característica fundamental para um bom desenvolvimento na lavoura. Assim, sementes com alto potencial fisiológico estão relacionadas diretamente com desempenho e estabelecimento de campos de produção, onde permite que se tenha uma lavoura mais uniforme.

O potencial fisiológico das sementes abrange um conjunto de aptidões, que nos permite estimar a capacidade de um lote de sementes manifestarem adequadamente suas funções vitais após a semeadura. Deste modo, as informações sobre a germinação e o vigor, obtidas em laboratório e canteiros, permitindo a comparação entre lotes de sementes, possibilitando a avaliação de sua qualidade fisiológica, tornado possível visualizar a probabilidade de sucesso com sua utilização.

Além disso, o potencial fisiológico das sementes comercializadas tem sido um referencial da credibilidade das empresas produtoras. Desse modo, a preocupação de uma empresa com a qualidade de sua semente, deve ser constante no sentido de alcançar, manter e determinar essa qualidade, sendo que a produção de sementes de alta qualidade representa um dos principais itens para o êxito na lavoura.

Assim, para que se tenha uma semente de alta qualidade, é importante avaliar os atributos de qualidade que estão divididos em genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários. Dessa forma, a vários fatores relacionados a esses atributos, os quais são: Genéticos: pureza varietal, potencial fisiológico, resistência a pragas e moléstias, precocidade, qualidade de grão além da resistência a diversas condições de solo e clima; Físicos: pureza física, umidade, danos mecânicos, peso de 1000 sementes, aparência e peso volumétrico; Fisiológicos: germinação, dormência e vigor e Sanitários: sementes livres de patógenos e pragas (PESKE et al., 2012).

Portanto, além das características intrínsecas da semente, existem diversos fatores extrínsecos que podem interferir na produção de sementes: como a disponibilidade de água e luz entre outros. De modo que, para se obter sementes de

qualidade, a produção deve ser realizada com controle rigoroso sobre todos os fatores que a possam reduzir a qualidade e quantidade de sementes produzidas. Além disso, esse controle deve ser estendido até a comercialização, de forma a garantir a qualidade genética, fisiológica, sanitária e física do lote produzido (PANOFF, 2013).

Sementes de alto vigor tendem a apresentar melhores índices de produtividade (KOLCHINSKI et al., 2005). Utilização de sementes vigorosas, podem assegurar uma população de plantas adequada sobre variações de condições ambientais de campo encontradas durante a emergência e estabelecimento na lavoura, proporcionando uma maior velocidade na emergência, proporcionando vantagens no aproveitamento de água, luz e nutrientes (HENNING et al., 2010).

A implantação da lavoura de soja com sementes de alta qualidade, aliada ao tratamento de sementes contendo defensivos, nutrientes e inoculantes, praticamente elimina os riscos do replantio, prática essa que impõe uma série de restrições tecnológicas, reduzindo assim a rentabilidade do empreendimento (FRANÇA NETO, 2009).

Alguns testes são utilizados para avaliar a qualidade de sementes, o teste de envelhecimento acelerado é frequentemente utilizado em programas de controle de qualidade de sementes e por empresas sementeiras de todo mundo. Esse teste foi originalmente, desenvolvido para determinar o potencial de armazenamento das sementes. No entanto, também têm sido realizados trabalhos para verificar sua eficiência na avaliação do potencial de emergência das plântulas em campo (FREITAS e NASCIMENTO, 2006).

No envelhecimento acelerado, as sementes são submetidas a temperaturas e umidades relativas elevadas, por períodos relativamente curtos; em seguida, são colocadas para germinar. Lotes de sementes de alto vigor devem manter sua viabilidade quando submetidos a essas condições, enquanto os de baixo vigor terão sua viabilidade reduzida (AOSA, 1983). Dessa forma, permite realizar a classificação das sementes através do vigor, principalmente, além de ser recomendado internacionalmente, e reconhecido pela ISTA (International Seed Test Association, 2004) para avaliar as sementes de soja (YAGUSHI et al.2014).

Além da qualidade fisiológica de sementes, também se busca características agrônômicas favoráveis em cultivares de soja como: altura da planta, altura de inserção da primeira vagem maior que 10 cm, haste herbácea, porte ereto,

resistência ao acamamento e à deiscência das vagens, resistência a doenças, pragas e nematóides, qualidade da semente, elevado teor de óleo e proteína, alto rendimento dos grãos, estabilidade da produção, maturação uniforme, alta capacidade para fixação de N₂. Estas características variam entre cultivares e são alteradas pelas condições ambientais, local e épocas de plantio e pela densidade de semeadura (MARCHIORI et al., 1999; YOKOMIZO et al., 2000; CARVALHO et al., 2003).

Desta forma as características agronômicas são fatores importantes para se compreender a interação genótipo e ambiente (MORAES et al. 2004). Ressaltando, a importância de se conhecer a associação entre caracteres agronômicos, e o ambiente em que as plantas estão sendo cultivada, enfatizando assim, conhecer a contribuição desses caracteres para a produção e qualidade de sementes (CRUZ, 2007).

2.3. Tratamento de sementes

O tratamento de sementes é a prática que envolve processos e substâncias, que adicionada a sementes tem a capacidade de preservar ou melhorar seu desempenho, permitindo que as culturas expressem seu potencial genético. Dessa forma, o tratamento de sementes consiste na aplicação de fungicidas, inseticidas, micronutrientes, estimulantes, inoculantes, visando assim à proteção contra, patógenos (insetos e fungos), melhorar o desempenho da planta através do suprimento de fertilizantes minerais e da fixação biológica de nitrogênio. Além de materiais inertes que permita a proteção física e uniformização da textura das sementes melhorando a plantabilidade. (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

Na safra 1990/91 a área cultivada com sementes tratadas representava aproximadamente 5% da área total cultivada. Desde a safra 2001/2002 o tratamento de sementes é utilizado em aproximadamente 93% das áreas cultivadas com soja (HENNING, 2004). Atualmente, mais de 90% das sementes de soja no Brasil são tratadas com algum tipo de produto químico e mais de 70% utilizam três ou mais produtos para proteger e melhorar o desempenho das sementes (PESKE e BAUDET 2012).

O tratamento de sementes auxilia na redução do ataque de patógenos, proporcionando uma melhora na porcentagem de germinação assim como a velocidade e uniformidade da mesma, favorecendo o desenvolvimento inicial da

cultura, e assim, aumentar a faixa de condições favoráveis à germinação. Contudo, o uso do tratamento de sementes com produtos sintéticos pode facilitar a obtenção destes conjuntos de características (SAMPAIO et al., 1995).

Dentre as vantagens atribuídas ao fornecimento de nutrientes via sementes estão: facilidade operacional, maior eficiência de uso do fertilizante, elevada uniformidade de distribuição dos elementos, maior disponibilidade dos nutrientes na fase inicial de crescimento das plantas, baixo custo relativo, entre outros (FAROOQ et al., 2012). O tratamento de sementes além de conferir proteção às sementes, oferece garantia adicional ao estabelecimento da lavoura a custos reduzidos, menos de 0,5% do custo de instalação da lavoura (HENNING, 2005).

Na agricultura vem se buscando altos tetos produtivos, e para que isso se torne possível e necessário a utilização de ferramentas de manejo que aumentem a precisão da distribuição dos nutrientes no campo, e aproximem os mesmos da zona de absorção da raiz. O tratamento de sementes é eficiente em ambos os casos, promovendo alocação precisa dos elementos na cultura e mantendo os elementos próximos à raiz, logo na fase inicial de crescimento das plantas (TAYLOR et al., 1998). De acordo com Scott (1989), em geral, as plântulas começam a absorver nutrientes do meio a partir do quarto dia após o início da germinação. Dessa forma a utilização de micronutrientes no tratamento de sementes pode minimizar problemas advindos da deficiência dos mesmos durante os processos de germinação, desenvolvimento e produção de sementes. (FOSSATI, 2004).

Para as sementes de soja a aplicação de fungicidas, inseticidas e micronutrientes e a inoculação com *Bradyrhizobium sp.* podem ser feitas de forma conjunta, mas para isso existem critérios. Para utilização de todos esses produtos na forma de líquido, a quantidade total de calda deve ser no máximo 600 ml para cada 100 kg de sementes, pois o excesso de líquido pode causar danos, soltando o tegumento e prejudicando a germinação (HENNING et al., 1997).

2.4. Molibdênio e sua função na atividade da enzima nitrato redutase

A importância do molibdênio (Mo) para a cultura da soja provém da sua dependência para o processo biológico de fixação de nitrogênio. Isso porque o molibdênio participa de duas enzimas importantes para a fixação de nitrogênio a nitrogenase e a nitrato redutase. Além disso, quando o suprimento de molibdênio é baixo ocorre a sua redistribuição das folhas para os nódulos, ocasionado assim

deficiência (QUAGGIO et al., 1991). Os sintomas da falta de Mo sinaliza a deficiência de nitrogênio, que é caracterizada por um amarelecimento generalizado da planta, podendo também ocasionar, folhas retorcidas e com manchas necróticas (PETERSON e PURVIS, 1961).

O Mo está presente no solo predominantemente como óxido molibdato (MoO_4^{2-}), em sua mais alta forma oxidada, tem sua disponibilidade influenciada por características físicas, químicas e mineralógicas dos solos (VISTOSO et al., 2005). Geralmente os teores médios de molibdênio total encontrados nos solos brasileiros variam de 0,5 a 5 mg dm^{-3} , sendo que o molibdênio disponível varia de 0,10 a 0,25 mg dm^{-3} , valores considerados baixos (Malavolta, 1980).

Os fatores de maior relevância que afetam a disponibilidade de Mo nos solos são: teor de argila e de óxidos de ferro e de alumínio, podendo ser retidos fortemente por estes elementos, além da matéria orgânica, pH, potencial redox e interação com outros nutrientes (SANTOS et al., 1991). No entanto, o pH do solo é um dos mais importantes fatores que afetam a absorção de molibdênio pelas plantas. Segundo Hamlin, (2007), para cada aumento de uma unidade no pH do solo acima de 5,0, a concentração de molibdênio solúvel aumenta em cem vezes, assim, com o acréscimo do pH, a quantidade da forma solúvel MoO_4^{2-} em equilíbrio com o solo é muito maior.

A absorção do molibdênio ocorre pelas raízes das plantas, na forma de molibdato (MoO_4^{2-}) e está presente nas plantas como ânion, principalmente em sua forma mais altamente oxidada, Mo^{+6} , sendo que também pode estar como Mo^{+5} e Mo^{+4} (KIRKBY e RÖMHELD, 2007).

Os mecanismos que envolvem a absorção, translocação e transporte de Mo na planta não são muito conhecidos, no entanto, algumas suposições em relação a estes mecanismos vêm sendo discutidas. Uma das principais hipóteses sobre a absorção do Mo estão relacionadas aos transportadores de fosfato e sulfato. Contudo, estudos realizados por Tesfamariam et al. (2004), relatam que existem indícios de que a exsudação de alguns compostos carboxílicos induzidos pela deficiência de fósforo (P) pode aumentar a aquisição de Mo pela absorção do molibdato, indicando que o mesmo ocorre quando se aplica fertilizante fosfatado solúvel em água.

Dessa maneira, os transportadores de fosfato da membrana podem estar ligados diretamente à maior absorção radicular do molibdato. No entanto, para que

isso ocorra de maneira efetiva, deve existir um teor limite da concentração de Mo na solução, assim como uma boa disponibilidade de P. (HEUWINKEL et al. 1992), evidenciando assim, um sinergismo entre o P (fósforo) e o Mo (molibdênio).

No entanto, há indicativos que o molibdênio também pode ser absorvido através dos transportadores de sulfato. Neste caso, estudos demonstram que ocorre uma competição entre os dois ânions (MENDEL e HANSCH, 2002), pois o sulfato e o molibdato são de propriedades físico-químicas semelhantes. Assim, uma grande possibilidade desses dois íons competirem pelo mesmo sítio de ligação e absorção. Estudos realizados por Ramadam et al. (2005), demonstraram que na cultura do tomate, à medida que se forneceu sulfato, a concentração e o fluxo de Mo na seiva foi reduzida.

No que se refere à translocação, considera-se que o Mo é um elemento prontamente móvel no xilema, sendo sua forma ainda desconhecida (KANNAN e RAMANI, 1978). Entretanto, observando suas propriedades químicas, é bem provável que o Mo se transporte como MoO_4^{2-} (MARSCHNER, 1995).

A essencialidade do molibdênio como um nutriente de plantas é baseada em sua função no processo de redução do NO_3^- via enzima nitrato redutase (HAMLIN, 2007), sendo que essa é a principal proteína contendo o micronutriente nos tecidos vegetativos (HEWITT, 1983). Dessa forma, as respostas à adubação com molibdênio (Mo) estão diretamente relacionadas ao requerimento deste nutriente por vários tipos de molibdoenzimas (Mo-enzimas) presentes nas plantas. Desse modo, a Mo-enzimas responsável pela redução é assimilação do nitrogênio e a nitrato redutase, para a fixação do nitrogênio é a nitrogenase (HAMLIN, 2007).

A enzima nitrato redutase é a primeira que atua no processo de assimilação do nitrogênio nas plantas, sendo responsável pela redução do nitrato a nitrito no citoplasma celular (PURCINO et al., 1994), conforme a equação: $\text{NO}_3^- + \text{NAD(P)H} + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{NAD(P)} + \text{H}_2\text{O}$. O NAD(P)H se refere à NADH ou NADPH (nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido). O NADH é o doador de elétrons para que a nitrato redutase reduza o nitrato a nitrito, sendo o agente redutor na parte aérea das plantas (SOLOMONSON e BARBER, 1990) e atua em conjunto com o molibdênio que é o co-fator desta enzima (VIEIRA et al., 1992). Nos tecidos não clorofilados, como raízes, o agente redutor pode ser tanto o NADH quanto o NADPH (WARNER e KLEINHOF, 1992).

A enzima nitrato redutase das plantas superiores são formadas por duas subunidades idênticas com três grupos prostéticos cada: FAD (flavina adenina dinucluetídeo), heme e um complexo formado entre o molibdênio e uma molécula orgânica denominada pterina (MENDEL e STALLMEYER, 1995; CAMPBELL, 1999).

Contudo, vários estudos vêm sendo realizados sobre a participação do Mo na planta e na atividade da enzima nitrato redutase. Estudos de Toledo et al. (2010) relatam que a atividade da enzima nitrato redutase é afetada pela adubação com molibdênio e maior quando o micronutriente é aplicado via foliar.

Segundo Nakao et al. (2014), estudando a aplicação foliar de molibdênio em soja, concluíram que, durante o processo de formação das sementes, com subsequente acúmulo desse nutriente, interfere positivamente na produtividade e na qualidade fisiológica das sementes de soja de forma crescente até a dose de 800 g ha⁻¹.

Estudos feito por Mata et al. (2011), demostram que a aplicação de 2,5 g.ha⁻¹ de Co e 42 g.ha⁻¹ de Mo via sementes na cultura da soja, promovem incrementos na nodulação. A produtividade da cultura, a massa de cem grãos e o teor de proteína nos grãos de soja foi aumentada em 62, 22 e 18%, pela adição de 38, 33 e 50 g.ha⁻¹ de Mo nas sementes, respectivamente (GELAIN et al., 2011). Segundo Meschede et al. (2004), avaliando o tratamento de sementes e adubação foliar com Co e Mo, observaram que houve um acréscimo de 7% e 20% na produtividade, respectivamente, em relação à testemunha sem aplicação de Co e Mo.

Em estudos recentes, Campo et al. (2009), relataram que a utilização de sementes enriquecidas com Mo também podem suprir a demanda desse micronutriente para se obter elevada eficiência da fixação biológica de nitrogênio, assim como a pesquisa de Milani et al. (2010), onde verificaram que o método de enriquecimento das sementes não prejudica a qualidade fisiológica das mesmas.

Segundo Campo e Lantmann (1998), observaram incrementos na produtividade e no teor de proteínas dos grãos da soja com aplicação de até 100 g.ha⁻¹ de Mo via tratamento de semente. Santos e Estefanel (1986) avaliaram a utilização de micronutrientes aplicados nas sementes de soja e concluíram que a aplicação de Mo aumentou o rendimento de grãos em condições de maior acidez no solo. Pesquisa de Meshede et al. (2004) também foram encontrados aumento (média de 4%) no teor de proteínas nos grãos com o uso do Mo via tratamento de sementes.

2.5. Importância do inoculante nas sementes

Pelo grande aumento da produção de soja, torna-se indispensável que se adotem práticas com maior eficiência em todas as etapas produtivas. Um dos fatores essenciais para que se obtenha altos valores de produção é a disponibilidade de nitrogênio para a planta.

Fertilizantes nitrogenados podem ser usados como fonte de nitrogênio, para o processo do cultivo da soja. Contudo, têm um aproveitamento em torno de 50%, o que é considerado baixo, além de possuir um custo elevado e um alto risco de contaminação ambiental. Usá-los como única fonte de nitrogênio torna a semeadura no Brasil inviável economicamente. Por outro lado, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) pode suprir totalmente essa demanda com um custo menor (CHUEIRE et al., 2003).

Desta forma, estudos visando os processos de nodulação e FBN são de fundamental importância para o aumento da produtividade de diferentes espécies de leguminosas agronomicamente importantes, assim como a cultura da soja.

Além disto, são necessárias pesquisas que contribuam para que se tenha a máxima eficiência da FBN e, conseqüentemente, aumentar a disponibilidade de nitrogênio para a planta até o período de enchimento dos grãos e tornar mais eficiente a utilização de carboidratos pelos nódulos (GUALTER et al., 2011). O processo de FBN requer suprimento contínuo de carboidratos, que fornecem a energia para a redução do nitrogênio e para os esqueletos de carbono, necessários à assimilação da amônia produzida. Durante os processos de infecção e desenvolvimento dos nódulos, que são perfeitamente interligados às plantas por meio de vasos xilemáticos e floemáticos, a energia necessária às divisões celulares é obtida da oxidação dos carboidratos produzidos na parte aérea da planta hospedeira (SILVEIRA et al., 2011).

A associação simbiótica entre as leguminosas e a bactéria ocorre quando há uma associação mutualística entre espécies vegetais e microrganismos fixadores, a efetividade do sistema simbiótico leguminosa-rizóbio e o desenvolvimento dos nódulos resultam da troca de sinais químicos moleculares entre a planta e o simbionte (ZILLI et al., 2011).

No meio ambiente existem várias espécies de bactérias, no entanto, as nativas de bactérias fixadoras de nitrogênio realizam a FBN em baixo grau de

eficiência e, portanto, é necessário obter estirpes de rizóbio de alta qualidade para que ocorra uma FBN eficiente. Essas estirpes devem ser capazes de competir pelos recursos necessários como, sobrevivência saprofítica no solo, exibir antagonismo, capacidade de predação e atuar sinergisticamente com outros microrganismos (FIGUEIREDO et al., 2008; ZILLI et al., 2011).

Os rizóbios são distribuídos em diferentes grupos taxonômicos que podem ser diferenciados de acordo com suas características morfológicas, fisiológicas, genéticas e filogenéticas (LINDSTRÖM et al., 2006). É possível classificá-los em α - e β -rizóbios (FRANCHE et al., 2009; BOMFETI et al., 2011). Assim as bactérias dos gêneros: *Agrobacterium*, *Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Devosia*, *Mesorhizobium*, *Methylobacterium*, *Ochrobactrum*, *Phyllobacterium*, *Rhizobium* e *Sinorhizobium* pertencem ao grupo das α -proteobactéria, enquanto as bactérias dos gêneros: *Burkholderia*, *Cupriavidus* e *Herbaspirillum* são pertencentes ao grupo das β -proteobactérias (WEIR, 2011).

As bactérias noduladoras na soja foram classificadas, inicialmente, na espécie *Rhizobium japonicum* (FRED et al., 1932), posteriormente reclassificadas como *Bradyrhizobium japonicum* (JORDAN, 1982) e, dez anos depois, subdivididas nas espécies *B. japonicum* e *B. elkanii* (KUYKENDALL et al., 1992). No entanto, há uma grande variabilidade entre as estirpes que nodulam a soja, quanto à eficiência do processo simbiótico e à capacidade competitiva com bactérias estabelecidas no solo (ARAÚJO e HUNGRIA, 1999).

Apenas os rizóbios de crescimento lento do gênero *Bradyrhizobium japonicum* e *Bradyrhizobium elkanii* nodulam as plantas de soja (MILAGRE, 2003). Estas bactérias se caracterizam por apresentar um tempo de geração de 7 a 13 horas. Além disso, para o seu crescimento necessitam de uma temperatura ótima que ocorre entre 25 e 30°C, apresentam colônias brancas, circulares, convexas e opacas, raramente translúcidas, tendendo a ser granulares na textura. Além disso, os bradirrizóbios são predominantemente aeróbios e quimiorganotróficos, também não esporulam, são Gram-negativos e possuem a forma de bastonete, com tamanho variável de 0,5-0,9 x 1,2-3,0 μm , sendo a sua mobilidade dada por um flagelo polar ou subpolar Grânulos de poli-E-hidroxitirato são encontrados com frequência no interior das células (SOMASEGARAN e HOBEN, 1994; HOLT et al., 1994).

3- CAPÍTULO I

TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA COM MOLIBDÊNIO PRESENÇA E AUSÊNCIA DE INOCULANTE: CARACTERES AGRONÔMICOS E QUALIDADE FISIOLÓGICA

3.1. INTRODUÇÃO

Devido à grande importância que a soja assumiu para economia brasileira, e a crescente modernização das lavouras, tem-se exigido dos produtores de sementes mudanças no processo produtivo, visando à otimização da qualidade fisiológica das mesmas, procurando-se elevar a produção através do rendimento por área. Em razão disso, a utilização de sementes de alta qualidade genética, física, sanitária e fisiológica assume papel fundamental para obtenção de altos potenciais produtivos da cultura.

Sementes de alta qualidade envolvem uma série de características, dentre as quais estão os atributos fisiológicos que são a germinação e o vigor (MARCOS FILHO, 2002). As características fisiológicas das sementes podem ser determinada pela avaliação da capacidade de reorganização do sistema de membranas celulares, associação de mecanismos enzimáticos e quantificação de compostos de reserva (PESKE, et al., 2012). Desta forma, os processos fisiológicos de germinação e vigor são influenciados pelos teores de proteína, lipídios, amido e açúcares (ZIMMER, 2012;).

O percentual germinativo e o vigor estão relacionados com uma série de fatores como: condições climáticas durante a maturação, condições de armazenamento, tamanho das sementes, grau de injúria mecânica, tratamento químico das sementes e nutrição das plantas, entre outros (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000; MEIRELES et al., 2009 e TOLEDO et al., 2009).

Desta forma, o tratamento de sementes tem contribuído para a proteção das sementes contra fungos e insetos de solo, patógenos transmitidos por semente. Além de possibilitar a adição de micronutrientes com o molibdênio e de inoculante, contribuindo assim para fixação biológica de nitrogênio.

A importância do molibdênio para soja advém da sua dependência para o processo biológico de fixação de nitrogênio. Isto é devido aos íons molibdênio (Mo^{+4} até Mo^{+6}) que são co-fatores da enzima nitrato redutase e a nitrogenase (TAIZ e

ZEIGER, 2004). Da mesma forma, o molibdênio está intimamente relacionado com o transporte de elétrons durante as reações bioquímicas nas plantas (LANTMANN, 2002).

Outro fator indispensável para a fixação biológica de nitrogênio (FBN) pela soja é a utilização de inoculante. A FBN promovida por bactérias do gênero *Bradyrhizobium* tem possibilitado a redução dos custos de produção na cultura da soja, com conseqüente aumento da competitividade dessa *commodity* no mercado internacional. Isso tem sido possível, pois a inoculação das sementes de soja é o primeiro passo para a obtenção de boa nodulação e, conseqüentemente, ao adequado suprimento de nitrogênio às plantas (HUNGRIA et al., 2005).

Assim, uma planta bem nutrida produzirá um maior número de sementes e com maior qualidade. Cravalho e Nakagawa (2000) relatam que no início da fase reprodutiva, as exigências nutricionais, para a maioria das espécies, tornam-se mais intensa, sendo mais crítica por ocasião da formação das sementes, quando ocorre considerável translocação de nutrientes, como o nitrogênio.

Portanto, a boa formação do embrião e dos tecidos de reserva, assim como a composição química de uma semente, depende de uma adequada disponibilidade de nutrientes para o crescimento e desenvolvimento das plantas, possibilitando que as sementes produzidas oriundas destas plantas sejam mais vigorosas (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

Neste contexto, o trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade fisiológica de sementes de soja produzidas, a partir de plantas oriundas de sementes tratadas com diferentes doses de molibdênio associados à presença e ausência de inoculante, além de avaliar os caracteres agronômicos das mesmas.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em área experimental e no Laboratório de Análise de Sementes, na Universidade Federal de Pelotas – Pelotas – RS - Brasil. O experimento foi em delineamento de blocos casualizados, em um esquema bifatorial, com quatro repetições, onde o primeiro fator de tratamento foram as doses de molibdênio (Mo) utilizando como fonte Molibdato de Sódio (Na_2MoO_4) (solução 127g.L^{-1}). As doses que constituíram os tratamentos foram: zero; 16; 32; 48; 64 g.100kg^{-1} de sementes combinadas com o segundo fator de tratamento que foi a presença e a ausência de inoculante líquido (TotalNitro), na dose de 200 ml por 100

kg de sementes, contendo bactérias *Bradyrhizobium japonico*, via tratamento de sementes em soja, da cultivar (CCGL TEC 5936 IPRO), com ciclo precoce, pertencente ao grupo de maturação 5.9, no período de safra 2013/2014.

As sementes foram tratadas com as dose do molibdato de sódio, fungicida da marca MAXIM ADVANCED e polímero Sepiret®, utilizando 125 e 400 mL. 100 kg de sementes⁻¹, respectivamente, com um volume de calda de 800 mL. 100 kg de sementes⁻¹, o qual foi completado com água. O recobrimento foi realizado aplicando-se as doses dos produtos, sobre quatro repetições de 200g de sementes por tratamento. Os produtos foram aplicados diretamente no fundo do saco plástico e espalhados até uma altura de aproximadamente 15 cm, sendo as sementes acondicionadas diretamente no interior do saco plástico, agitando-as por 3 min até distribuição total do produto sobre superfície da semente. Em seguida, as sementes foram colocadas para secar em temperatura ambiente por um período de 24 horas, conforme metodologia descrita por Nunes (2005). O inoculante foi adicionado a sementes antes da semeadura com a dose de 200 mL. 100 kg de sementes⁻¹, sendo adicionado sobre as 200 g das sementes já tratadas e agitando ate ter a distribuição total do produto, logo após a inoculação foi realizado a semeadura.

A semeadura foi realizada em vasos de 20 litros, preenchidos com solo de mata peneirado. As adubações foram realizadas de acordo com os dados da análise de solo (anexo) e com CFQS RS/SC (Comissão de Fertilidade e Química do Solo – RS/SC, 2004), sendo utilizado como adubação de base apenas, fósforo e potássio, os quais foram incorporados ao solo no momento da semeadura. A calagem foi realizada trinta dias antes da semeadura. Para tanto, consideram que o volume da camada arável do solo em um hectare em torno de 2 milhões de litros, as quantidades de adubação foram transformadas para o volume dos vasos. Foram semeadas 10 sementes por unidade experimental, sendo que após a emergência foi realizado desbaste deixando apenas 4 plantas por vaso, as quais permaneceram até a colheita das sementes. Durante o crescimento e desenvolvimento das plantas foram realizadas aplicações de fungicidas e inseticidas, de maneira preventiva. A irrigação foi realizada diariamente.

O experimento foi conduzido até a fase de maturação de campo no estágio (R8), sendo posteriormente realizado a avaliação dos caracteres agronômicos e a qualidade fisiológica das sementes produzidas, onde se utilizou os seguintes testes.

3.2.1. Caracteres agrônômicos

Após a maturação das sementes de soja, foi feita a coleta de 3 plantas por repetição totalizando 12 plantas por tratamento, e mensurada a altura das plantas avaliando a medida do nó cotiledonar da planta até a extremidade da haste principal, realizado com auxílio de uma trena métrica. Foi realizada a contagem do número de legumes por planta. Posteriormente, os legumes foram debulhados e efetuado a contagem do número de sementes por planta. Após a debulha foi determinado teor de água das sementes e homogeneizada em 13% de umidade. Foram coletadas oito amostras de 100 sementes de cada tratamento, foram pesadas em balança analítica. Para estas pesagens calculou-se a média, e multiplicou-se a média por 10, obtendo assim o peso de mil sementes.

3.2.2- Determinações da qualidade fisiológica

Para a determinação da qualidade fisiológica das sementes produzidas foram avaliados os seguintes testes:

Teste de germinação (G): O teste de germinação foi realizado utilizando quatro repetições de cada tratamento, contendo quatro subamostras de 50 sementes, semeadas em rolos de papel germitest umedecidas, com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. Os rolos foram colocados no germinador a uma temperatura 25°C. A germinação foi realizada aos 8 dias, na qual foi determinada a percentagem de plântulas normais, obtendo o resultado da germinação de acordo com as Regras para Análise de Semente (BRASIL, 2009).

Primeira contagem de germinação (PCG): foi conduzido juntamente com o teste de germinação, sendo a contagem realizada no quinto dia após a semeadura (BRASIL, 2009).

Teste de envelhecimento acelerado (EA): para determinação do teste foi seguida a metodologia de Marcos Filho (2005), utilizando caixas tipo gerbox próprios para os testes, no qual contem uma tela de alumínio que foi fixada no interior da caixa sendo distribuídas as sementes sobre a mesma, também foram adicionados 40 ml de água destilada no fundo das mesmas. Os gerbox foram fechados e colocados dentro de uma câmara reguladora BOD, com uma temperatura controlada de 41°C e permaneceu durante um período de 48 horas. Após este período as

sementes foram colocadas para germinar segundo a metodologia no teste da primeira contagem da germinação (BRASIL, 2009).

Teste de Frio (TF): foram utilizadas quatro repetições de cada tratamento, contendo quatro subamostras de 50 sementes, seguindo metodologia do teste de germinação. Os rolos foram colocados em refrigerador à temperatura de 8 a 10°C, durante 7 dias, e após, mantidos em germinador a temperatura de 25°C e feita contagem das plântulas normais no quinto dia.

Comprimento da parte aérea (CPA) e da raiz (CR): para a execução do teste foram utilizados quatro repetições por tratamento contendo quatro subamostras de 20 sementes cada. As sementes foram colocadas para germinar, alinhadas na parte superior do papel de germinação *germitest* o mesmo foi umedecido a 2,5 vezes do seu peso. Após os rolos foram colocados em um germinador a 25°C. O comprimento foi avaliado aos 5 dias, com o auxílio de régua graduada, sendo medido separadamente o comprimento da parte aérea e de raiz de 10 plântulas normais escolhidas aleatoriamente. Os comprimentos médios da parte aérea e da raiz foram determinados somando-se as medidas de cada repetição e dividindo pelo número de plântulas avaliado, conforme metodologia descrita por NAKAGAWA (1999).

Massa seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR): foram utilizadas as partes aérea e radicular oriundas do teste de comprimento de plântulas (parte aérea e raiz), após foram acondicionadas em estufa a 70°C com circulação de ar forçado, durante um período de 48h, sendo posteriormente pesadas em balança analítica com precisão de 0,0001g. Os resultados foram expressos em mg.plântula^{-1} , considerando-se o peso médio de dez das partes.

Emergência de plântulas a campo (EC): o teste foi realizado com 200 sementes por tratamento, divididas em quatro repetição de 50 sementes, distribuídas em sulcos de 1 metro de comprimento e com 3 cm de profundidade, com 2 cm entre sementes e espaçadas a 20 cm entre linhas. A contagem foi realizada aos 14 dias após a semeadura (ocorreu à estabilização da cultura) onde observou-se as plântulas emergidas, considerando apenas as que emitirem os cotilédones acima da superfície do solo.

3.2.3. Procedimentos estatísticos

As análises estatísticas foram realizadas pelo conjunto de informações obtidas pela síntese dos dados de campo e em laboratório. Os dados foram

submetidos à análise de variância, sendo os efeitos dos tratamentos avaliados pelo teste F, e quando significativo às médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, e quando necessário foi realizada regressão polinomial para os fatores quantitativos. As análises foram realizadas com o uso do programa estatístico Winstat 1.0 (MACHADO e CONCEIÇÃO, 2003).

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 observa-se os resultados da análise de variância para as variáveis referentes aos caracteres agrônômicos e qualidade fisiológica de sementes produzidas, provindas de sementes tratadas com inoculante e molibdênio na ocasião da semeadura. Verificou-se que para os testes de envelhecimento acelerado, comprimento de parte aérea e raiz, número de legumes e número de sementes por planta, evidenciou resultados significativos apenas para o tratamento referente ao inoculante. Já para as variáveis de massa seca de parte aérea e raiz, altura de planta e peso de mil sementes, foi constatado diferença significativa para os tratamentos referente a adição de inoculante e para as doses de molibdênio. Para as demais variáveis não houve diferença estatística entre os tratamentos.

TABELA 1. Resumo da análise de variância dos efeitos de doses de molibdênio associado à aplicação de inoculante em sementes de soja expressão na qualidade fisiológica e caracteres agrônômicos das sementes produzidas. UFPel, 2015.

FV	GL	Quadrado Médio						
		AP(cm)	NLP(n)	NSP(n)	PMS(g)	PCG(%)	G(%)	TF(%)
Inoculante	1	68,828*	250,000*	864,900*	6337,051*	21,025 ^{ns}	4,900 ^{ns}	2,500 ^{ns}
Dose	4	40,466*	22,963 ^{ns}	265,963 ^{ns}	802,573*	0,788 ^{ns}	4,750 ^{ns}	2,088 ^{ns}
I X D	4	4,054 ^{ns}	2,313 ^{ns}	147,213 ^{ns}	38,878 ^{ns}	114,625 ^{ns}	2,400 ^{ns}	3,688 ^{ns}
Resíduo	30	4,466	9,522	196,867	33,460	10,232	1,759	2,237
CV(%)		3,52	5,83	13,18	2,93	3,46	1,35	1,54
FV	GL	EC(%)	EA(%)	CPA (cm)	CR(cm)	MSPA(mg)	MSR(mg)	
Inoculante	1	3,600 ^{ns}	144,400*	22,937*	12,950*	2417,170*	24,025*	
Dose	3	24,350 ^{ns}	24,088 ^{ns}	1,345 ^{ns}	1,478 ^{ns}	768,403*	15,765*	
I X D	3	11,350 ^{ns}	13,588 ^{ns}	2,023 ^{ns}	1,579 ^{ns}	136,740 ^{ns}	3,908 ^{ns}	
Resíduo	21	22,963	12,433	2,365	0,847	115,956	2,851	
CV(%)		5,08	3,89	10,25	4,02	7,97	7,81	

(*significativo ao nível de 5% de probabilidade, $0.01 \leq p < 0.05$ pelo teste F; ns = não significativo, $p \geq 0.05$ pelo teste F). Primeira contagem de germinação (PCG), germinação (G), teste de frio (TF), emergência em campo (EC), envelhecimento acelerado (EA), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento radicular (CR), massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca radicular (MSR), altura de planta (AP), número de legumes por planta (NLP), número de sementes por planta (NSP) e peso de mil sementes(PMS).

Para os dados caracteres agronômicos apresentados na tabela 2, foi verificado que para as variáveis altura de plantas, número de vagens por planta e número de sementes por planta, as sementes que tiveram adição de inoculante, apresentaram desempenho superior em relação as demais. Ainda, a variável peso de mil sementes, das sementes provindas das plantas tratadas com inoculante no momento da semeadura, também tiveram um desempenho superior em relação as não tratadas.

TABELA 2. Caracteres agronômicos: altura de planta (AP); número de legumes por planta (NLP); número de sementes por planta (NSP); submetidas a diferentes doses de molibdênio na presença ou ausência de inoculante via tratamento de sementes antes da semeadura. UFPel, 2015.

Variável	Inoculante	Dose (molibdato de sódio (solução 127g.L ⁻¹))					Média
		0	16	32	48	64	
AP (cm)	Presença	58,83	60,96	61,44	62,20	63,00	61,29a
	Ausência	54,17	57,42	59,50	60,85	61,38	58,66b
	Média	56,50*	59,19	60,47	61,52	62,19	
	CV(%)	3,52					
NLP (n)	Presença	54	54	56	56	58	55a
	Ausência	48	49	49	52	53	50b
	Média	51 ^{ns}	52	53	54	55	
	CV(%)	5,83					
NSP (n)	Presença	104	118	107	114	112	111a
	Ausência	92	95	103	113	106	102b
	Média	98 ^{ns}	106	105	114	109	
	CV(%)	13,18					
PMS (g)	Presença	193,50	204,00	214,04	216,61	221,73	209,98a
	Ausência	174,83	177,12	183,77	193,40	194,89	184,80b
	Média	184,16*	190,56	198,91	205,01	208,31	
	CV(%)	2,93					

Letras iguais minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade de erro pelo modelo de agrupamento de Tukey (*significativo ao nível de 5% de probabilidade, 0.01 =< p <0.05 pelo teste F; ns = não significativo, p >= 0.05 pelo teste F).

Afirmado assim, que a presença da bactéria *Bradyrhizobium* proporcionou uma maior fixação de nitrogênio atmosférico induzindo as plantas a um maior desenvolvimento, tanto em altura, como em número de vagens e conseqüentemente um maior número e peso de mil sementes. Pode-se constatar ainda na tabela 2, diferença significativa entre as doses de molibdênio para as variáveis de altura de plantas e peso de mil sementes.

Nos estudos realizados por Golo et al., (2009), para os caracteres número de vagens por planta e número de sementes por planta, foram observadas diferenças significativas, onde o tratamento com inoculante apresentou-se superior, com incrementos de 8,4% e 9,5%, respectivamente.

Cabe ressaltar, que a altura de planta teve uma influência positiva linear quando relacionado a doses crescentes de molibdênio (Figura 1A). Assim, a cada grama de Molibdato de Sódio (solução 127g.L^{-1}) acrescentado as sementes proporcionou um incremento de 0,08 cm na altura de plantas. Na dose máxima de molibdato de sódio (64 gamas) proporcionou um aumento de aproximadamente 10% quando comparado a testemunha (sem adição do micronutriente).

Concordando com os resultados encontrado por Teixeira, (2006) onde verificou que a altura da planta foi significativamente afetada pela aplicação das doses de molibdênio, tendo a dose de 420 g ha^{-1} , proporcionado altura máxima. Por outro lado, Meschede et al. (2004) não observaram diferenças significativas nos resultados obtidos para a altura de plantas, quando foi realizada a aplicação de Mo e Co via tratamento de sementes e também do produto via foliar. Marcondes e Caíres (2005) também não encontraram influência significativa das doses de molibdênio utilizadas (0 e 48 g.ha^{-1}) sobre a altura das plantas de soja, número de vagens por planta, número de grãos por vagem e massa de cem grãos

Na figura 1B, é possível observar que as sementes tratadas com molibdênio geraram ao final do ciclo da cultura da soja, sementes com PMS superior. Dessa forma, verificou-se um aumento gradativo da variável analisada à medida que ocorre o incremento do micronutriente nas sementes tratadas, ou seja, um acréscimo aproximado de 13% na maior dose testada (dose 64 gramas) quando comparado a testemunha (ausência de molibdato de sódio). Concordando com os resultados encontrados por Nakao et al. (2014), onde os autores acharam resultados positivos para peso de mil sementes, até a dose de 488 g ha^{-1} com a aplicação de molibdênio via foliar. Tais resultados assemelham-se com os relatados por Silva et al. (2011) que constataram resultados positivos para peso de mil sementes de soja quando receberam aplicação de cobalto e molibdênio.

Por outro lado Possenti e Villela (2010), estudando doses de molibdênio no tratamento de sementes, observaram que para o PMS não houve resposta significativa do enriquecimento das sementes com molibdênio. Concordando com

resultado encontrados por Rossi et al. (2012), que não houve diferença significativa no peso de 100 grãos de soja quando aplicado molibdênio foliar.

Dados de Vieira et al. (2011), relacionando a aplicação de molibdênio via pulverização em feijoeiro também não encontraram resposta significativa. Os mesmos enfatizaram que essa falta de resposta da adubação com molibdênio pode estar relacionada a aplicação de 100 ou 110 kg ha⁻¹ de uréia em cobertura, além da adubação nitrogenada que foi realizada na semeadura.

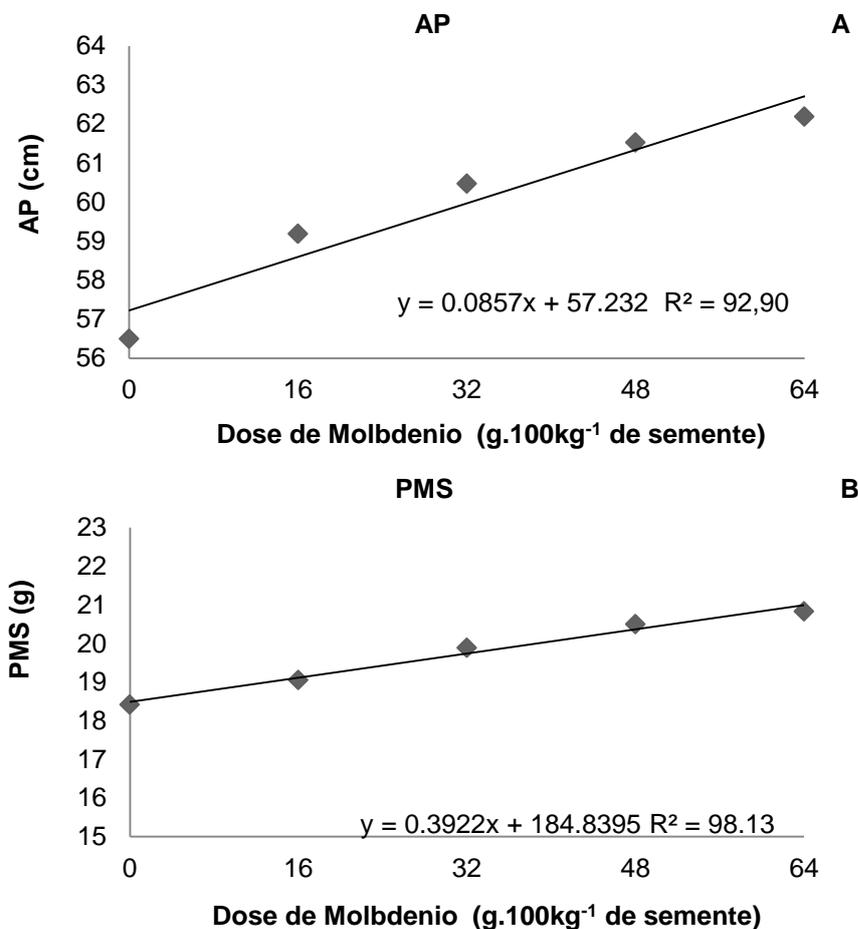


FIGURA 1. Caracteres agrônômicos: altura de plantas (AP); submetidas a diferentes doses de molibdênio via tratamento de sementes e peso de mil sementes (PMS) provindas de plantas tratadas com diferentes doses de molibdênio na ocasião da semeadura. UFPel, 2015. *A- altura de planta; B- peso de mil sementes

Observa-se na tabela 3, que para as variáveis de primeira contagem de germinação, germinação, teste de frio e emergência a campo não teve diferença significativa para os tratamentos. Para o teste de envelhecimento acelerado (Tabela 3), foi verificado que as sementes produzidas oriundas das plantas que receberam inoculante na ocasião da semeadura, tiveram um melhor desempenho em

comparação as não receberam inoculante. Entretanto, não foi observado efeito significativo entre as doses de molibdênio.

TABELA 3. Qualidade Fisiológica de semente de soja produzida: primeira contagem de germinação (PCG); germinação (G); teste de frio (TF); envelhecimento acelerado (EA); emergência a campo (EC); submetida a diferentes doses de molibdênio na presença ou ausência de inoculante via tratamento de sementes. UFPel, 2015.

Variável	Inoculante	Dose (molibdato de sódio (solução 127g.L ⁻¹))					Média
		0	16	32	48	64	
PCG (%)	Presença	92	93	94	94	94	93 ^{ns}
	Ausência	93	93	91	90	91	92
	Média	92 ^{ns}	93	93	92	92	
	CV(%)	3,46					
G (%)	Presença	97	99	98	99	99	98 ^{ns}
	Ausência	98	99	96	98	96	97
	Média	98 ^{ns}	99	97	99	97	
	CV(%)	1,35					
TF (%)	Presença	97	97	98	98	98	97 ^{ns}
	Ausência	96	98	96	98	98	97
	Média	96 ^{ns}	97	97	98	98	
	CV(%)	1,54					
EC (%)	Presença	95	96	94	96	93	95 ^{ns}
	Ausência	91	98	93	96	94	94
	Média	93 ^{ns}	97	94	96	94	
	CV(%)	5,08					
EA (%)	Presença	91	94	93	94	92	93a
	Ausência	85	90	92	87	90	89b
	Média	88 ^{ns}	92	92	91	91	
	CV(%)	3,89					

Letras iguais minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade de erro pelo modelo de agrupamento de Tukey (*significativo ao nível de 5% de probabilidade, 0.01 =< p <0.05 pelo teste F; ns = não significativo, p >= 0.05 pelo teste F).

Mata et al. 2011 relata que a associação das bactérias ao sistema radicular da soja estabelece uma simbiose, a partir da qual disponibiliza o nitrogênio de que a planta necessita por meio de estruturas especializadas nas raízes (nódulos), nos quais ocorre o processo de fixação biológica de nitrogênio. Fato este que permite melhorar a qualidade das sementes produzidas devido a uma melhor disponibilidade de nitrogênio a planta pela fixação biológica de nitrogênio.

Concordando com os resultados encontrados no trabalho, Brzezinski et al. (2014) concluíram que a inoculação das sementes de trigo com *Azospirillum brasilense* favorece o vigor (envelhecimento acelerado). Resultados semelhantes foram obtidos por Cassán et al. (2009), com as culturas do milho e soja, nas quais o tratamento de sementes com inoculante promoveu aumentos significativos de germinação e vigor das sementes.

Em relação às doses de molibdênio estudos similares foi encontrado por Possenti e Villela (2010), que para a variável germinação, não evidenciou diferença significativa do enriquecimento das sementes com molibdênio. De maneira similar Smiderle et al. (2008), avaliando o efeito do molibdênio, aplicados por embebição em sementes de feijão, não verificaram alterações significativas na qualidade fisiológica das sementes. Por outro lado, Guerra et al., (2006) avaliando a qualidade fisiológica de sementes de soja em função da adubação com molibdênio aplicado via sementes, proporcionou aumento na germinação e emergência de plântulas em campo.

Para as variáveis, comprimento da parte aérea e de raiz, das sementes produzida por plantas que receberam inoculante no tratamento de sementes, foram superiores em comparação as que não receberam (Tabela 4). Foi evidenciado que a presença da bactéria *Bradyrhizobium* proporcionou um incremento em torno de 10% de comprimento na parte aérea e 5% de comprimento na raiz. Entre tanto, pode-se observar que o comprimento de parte aérea e de raiz não foram influenciados pelas diferentes doses de molibdênio utilizadas. Resultados similares aos de Rampim et al. (2012) que detectaram incremento de comprimento de parte aérea e de raiz com tratamento de sementes de trigo com inoculação *Azospirillum brasilense*, demonstrando a interferência positiva das bactérias diazotróficas no desenvolvimento inicial de plântulas.

Aumento expressivo de massa seca da parte aérea e raiz foi verificado (Tabela 4), afirmando um melhor vigor em sementes produzidas provindas de plantas que receberam inoculante no momento da semeadura. De encontro com resultados obtidos por Brzezinski et al. (2014), que trabalhado com inoculação de sementes de trigo com, concluiu que houve um incremento de massa seca de parte aérea de plântulas.

Da mesma forma estudos realizados por Santana et al. (2011), mostram que a aplicação de inoculante turfoso mais Co e Mo, pulverizado em V3 proporcionou

maior massa seca da haste. Segundo os mesmos autores a mesma tendência foi verificada para massa seca das folhas, onde o tratamento proporcionou maior média dessa variável. Além disto, ressaltaram que quando foi aplicado apenas Co e Mo, sem uma forma de inoculante, foram observados os menores valores da variável, evidenciando a importância da associação entre bactéria e planta de soja, para eficiência da fixação biológica de nitrogênio.

De encontro ao relato anterior, Bárbaro et al. (2009) não observaram diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos sem e com inoculação com *Bradyrhizobium* nos parâmetros massa seca de parte aérea e massa seca de raiz.

TABELA 4. Qualidade fisiológica de semente de soja produzida: comprimento de parte aérea (CPA); comprimento de raiz (CR); massa seca da parte aérea (MSPA); massa seca da raiz (MSR); submetidas a diferentes doses de molibdênio na presença ou ausência de inoculante via tratamento de sementes antes da semeadura. UFPel, 2015.

Variável	Inoculante	Dose (molibdato de sódio (solução 127g.L ⁻¹))					Média
		0	16	32	48	64	
CPA (cm)	Presença	15,46	14,90	16,50	15,44	16,49	15,76a
	Ausência	15,24	14,13	13,93	13,75	14,15	14,24b
	Média	15,35 ^{ns}	14,51	15,21	14,59	15,32	
	CV(%)	10,25					
CR (cm)	Presença	23,33	23,70	24,12	23,18	22,78	23,42a
	Ausência	23,20	21,79	22,21	21,85	22,05	22,28b
	Média	23,27 ^{ns}	22,74	23,16	22,52	22,42	
	CV(%)	4,02					
MSPA (mg)	Presença	134,42	134,93	148,05	148,98	147,82	142,84a
	Ausência	111,04	120,72	123,39	139,61	141,71	127,29b
	Média	122,73*	127,82	135,72	144,29	144,76	
	CV(%)	7,97					
MSR (mg)	Presença	20,38	21,78	23,99	22,69	23,08	22,38a
	Ausência	18,45	20,32	20,31	22,67	22,42	20,83b
	Média	19,41*	21,05	22,15	22,68	22,75	
	CV(%)	7,81					

Letras iguais minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade de erro pelo modelo de agrupamento de Tukey (*significativo ao nível de 5% de probabilidade, 0.01 =< p <0.05 pelo teste F; ns = não significativo, p >= 0.05 pelo teste F).

De acordo com a figura 2A e B, observou-se que para massa seca de parte aérea e massa seca de raiz, as diferentes doses de molibdênio influenciaram positivamente, mostrando um aumento linear no ganho de fitomassa seca de ambas as variáveis analisadas. Cabe ressaltar, que para cada grama de molibdato de sódio

(solução 127g.L^{-1}) adicionado a semente proporcionaram um incremento de 0,378 e 0,0519 miligramas de fitomassa seca da parte aérea e da raiz, respectivamente.

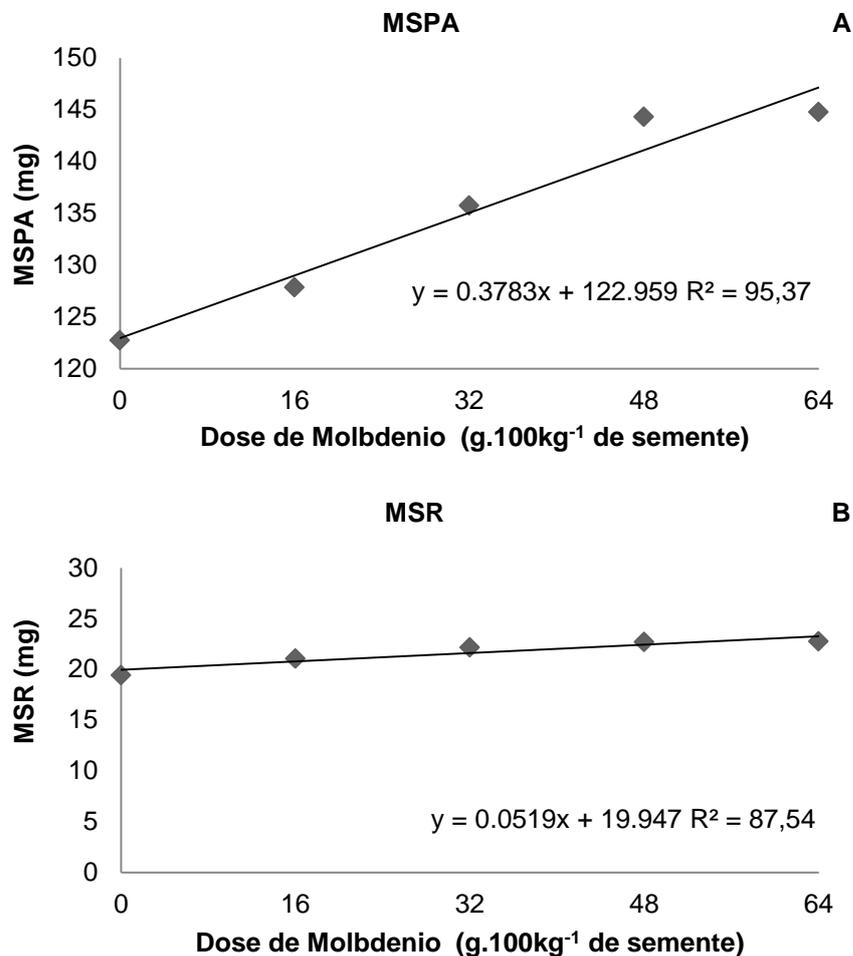


FIGURA 2. Massa seca da parte aérea MSPA (A); massa seca da raiz MSR (B); submetida a diferentes doses de molibdênio via tratamento de sementes antes da semeadura. UFPel, 2015.

Resultados similares ao do trabalho foi encontrado por Oliveira et al. (2010), que constataram que o molibdênio aplicado em mamona exerceu uma maior influência que os demais micronutrientes (ferro, zinco, boro, cobre e manganês), sobre a produção de massa seca. Por outro lado, resultados encontrados por Milani et al. (2008), o teor de molibdênio contido na semente, em função da dose aplicada, não influenciou o crescimento da parte aérea e raiz. Resultados similares foram encontrado por Marcondes e Caires (2005), que também não observaram diferenças significativas para matéria seca em soja, após a aplicação de Mo via sementes. Dados de Guareschi e Perin (2009), também observaram que a aplicação de doses crescentes de molibdênio, via foliar, não influenciaram na produção de biomassa da parte aérea e de raízes na cultura da soja e do feijão.

3.4. CONCLUSÕES

A adição de inoculante proporciona melhor expressão do vigor das sementes produzidas, altura de planta, número de legumes e sementes por planta, além de influenciar positivamente no peso de mil sementes.

A aplicação de molibdênio via semente no momento da semeadura, promove benefícios em relação ao vigor da semente produzidos, aumentando linearmente a massa seca de parte aérea e raiz.

Doses de molibdênio proporciona um aumento linear da altura de planta e do peso de mil sementes.

4. CAPÍTULO II

DOSES DE MOLIBDÊNIO ASSOCIADO AO INOCULANTE: ATIVIDADE DA ENZIMA NITRATO REDUTASE EM SOJA CORRELACIONADAS COM QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES E CARACTERES AGRONÔMICOS

4.1 INTRODUÇÃO

Devido ao seu potencial produtivo, composição química e valor nutritivo, a soja (*Glycine max* (L.) Merrill) tornou-se a cultura anual de maior expressão econômica no Brasil. Confere multiplicidade de aplicações na alimentação humana e animal, com relevante papel socioeconômico, além de se constituir em matéria-prima indispensável para impulsionar diversos complexos agroindustriais (MAUAD et al., 2010).

Entre vários fatores responsáveis pela sua expansão, competitividade, destaca-se a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico quando em simbiose com bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, fornecida através da inoculação das sementes. Com isso, a planta torna-se capaz suprir sua exigência de nitrogênio por meio do processo de fixação biológica. Ao encontro desse relato, Crawford et al. (2000) observaram que durante a assimilação de nitrogênio em compostos orgânicos, o nitrato é, primeiramente, reduzido à forma amoniacal por meio de um processo que envolve a participação de duas enzimas, dentre elas a nitrato redutase, a qual o molibdênio tem importante função.

Assim, cabe ressaltar, que o molibdênio (Mo) é um dos micronutrientes que desempenha papel fundamental na nutrição das plantas, pois sua função está relacionada com o metabolismo do nitrogênio, atuando como cofator, de duas metaloenzimas: a nitrogenase; que participa na fixação simbiótica do nitrogênio e a redutase do nitrato, que atua na redução do nitrato à amônia na planta (ARAÚJO et al., 2008).

A enzima nitrato redutase é uma enzima complexa contendo duas subunidades idênticas, isto é, ela existe como um dímero. Cada subunidade contendo três grupos prostéticos (flavina adenina dinucleotídio –FAD, citocromo 557-Cytc e o co-fator-MoCo) pode funcionar separadamente na redução do nitrato (CAMPEBELL e REDINBAUGH, 1984). Como pode ser esperado, a atividade da nitrato redutase é muito baixa em plantas deficientes de Mo (NOTTON e HEWITT,

1979). De acordo com WANG et al. (1999), o conteúdo de Mo e a atividade da nitrato redutase (ANR) em plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) diminuíram em solos deficientes do referido elemento.

Na literatura há várias citações afirmando que a enzima nitrato redutase é induzida pelo substrato, sendo que o nitrato é o primeiro sinal neste processo (MARSCHNER 1995). Quando o nitrato está ausente, a síntese e a atividade da enzima permanecem em níveis muito baixos. Entretanto, quando a planta é submetida ao nitrato, a síntese do nitrato redutase rapidamente é induzida (PESSOA et al., 2001).

Todo o processo envolvido na fixação e disponibilização de nitrogênio para a planta é muito importante, sendo que o nitrogênio é um nutriente requerido em grandes quantidades pela cultura da soja, tendo fundamental importância na qualidade de sementes. Sabendo-se, que as sementes são muito ricas em proteínas, Zimmer (2012), relatou que os processos fisiológicos de germinação e vigor são influenciados pelos teores de proteína, lipídios, amido e açúcares.

Dessa forma, o nitrogênio está intimamente ligado à produção de proteínas, que são constituintes essenciais, pois as reservas de proteínas são hidrolisadas durante a germinação das sementes para suprir o eixo embrionário, desempenhando papel primordial no desenvolvimento inicial das plântulas (SARMENTO E SILVA, 2010). As principais fontes de fornecimento desse elemento às plantas de soja são: o solo, principalmente pela decomposição da matéria orgânica; os fertilizantes nitrogenados e o processo de fixação biológica do nitrogênio atmosférico (N₂) pela bactéria *Bradyrhizobium japonicum* (HUNGRIA et al., 2001).

Outra forma de beneficiar a produção de sementes com alta qualidade é o tratamento de sementes, que proporciona a aplicação de diversos produtos como os fungicidas, inseticidas, micronutrientes, inoculante, polímeros, entre outros. O tratamento de sementes tem como objetivo que as sementes apresentem o melhor desempenho durante o processo germinativo e melhor vigor (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). Desta forma, a utilização de sementes tratadas com micronutrientes, como o molibdênio, tem apresentado efeitos significativos na produtividade (ÁVILA et al., 2005).

Há vários estudos que mostram diversas maneiras de aplicações de micronutrientes e de inoculantes em soja. No entanto, Peske et al.(2005), relatam que uma das formas mais comum de aplicar molibdênio na soja é via tratamento de

semente, pois proporciona uma melhor distribuição, além de favorecer o estabelecimento da associação entre o *Bradyrhizobium* e a cultura.

Face ao exposto, objetivou-se com o presente trabalho avaliar a atividade da enzima nitrato redutase, e sua correlação com os caracteres agrônômicos e qualidade fisiológica de sementes produzidas, a partir de plantas oriundas de sementes tratadas com diferentes doses de molibdênio associados à presença e ausência do inoculante.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em área experimental no Laboratório de Análise de Sementes e no Laboratório de Bioquímica, pertencentes a Universidade Federal de Pelotas – Pelotas – RS - Brasil. O experimento foi em delineamento de blocos casualizados, em um esquema bifatorial, com quatro repetições, onde o primeiro fator de tratamento foram as doses de molibdênio (Mo) utilizando como fonte Molibdato de Sódio (Na_2MoO_4) (solução 127g.L^{-1}). As doses que constituíram os tratamentos foram: zero; 16; 32; 48; 64 g.100kg^{-1} de sementes combinadas com o segundo fator de tratamento que foi a presença e a ausência de inoculante líquido (TotalNitro), na dose de 200 ml por 100 kg de sementes, contendo bactérias *Bradyrhizobium japonico*, via tratamento de sementes em soja, da cultivar (CCGL TEC 5936 IPRO), com ciclo precoce, pertencente ao grupo de maturação 5.9, no período de safra 2013/2014.

As sementes foram tratadas com as dose do molibdato de sódio, fungicida da marca MAXIM ADVANCED e polímero Sepiret®, utilizando 125 e 400 mL. 100 kg de sementes⁻¹, respectivamente, com um volume de calda de 800 mL. 100 kg de sementes⁻¹, o qual foi completado com água. O recobrimento foi realizado aplicando-se as doses dos produtos, sobre quatro repetições de 200g de sementes por tratamento. Os produtos foram aplicados diretamente no fundo do saco plástico e espalhados até uma altura de aproximadamente 15 cm, sendo as sementes acondicionadas diretamente no interior do saco plástico, agitando-as por 3 min até distribuição total do produto sobre superfície da semente. Em seguida, as sementes foram colocadas para secar em temperatura ambiente por um período de 24 horas, conforme metodologia descrita por Nunes (2005). O inoculante foi adicionado a sementes antes da semeadura com a dose de 200 mL. 100 kg de sementes⁻¹, sendo

adicionado sobre as 200 g das sementes já tratadas e agitando até ter a distribuição total do produto, logo após a inoculação foi realizado a semeadura.

A semeadura foi realizada em vasos de 20 litros, preenchidos com solo de mata peneirado. As adubações foram realizadas de acordo com os dados da análise de solo (anexo) e com CFQS RS/SC (Comissão de Fertilidade e Química do Solo – RS/SC, 2004), sendo utilizado como adubação de base apenas, fósforo e potássio, os quais foram incorporados ao solo no momento da semeadura. A calagem foi realizada trinta dias antes da semeadura. Para tanto, consideram que o volume da camada arável do solo em um hectare em torno de 2 milhões de litros, as quantidades de adubação foram transformadas para o volume dos vasos. Foram semeadas 10 sementes por unidade experimental, sendo que após a emergência foi realizado desbaste deixando apenas 4 plantas por vaso, as quais permaneceram até a colheita das sementes. Durante o crescimento e desenvolvimento das plantas foram realizadas aplicações de fungicidas e inseticidas, de maneira preventiva. A irrigação foi realizada diariamente.

Durante a condução do experimento, foram realizadas coletas de folhas em diferentes estádios fenológicos para avaliação da atividade enzimática. As plantas restantes foram conduzidas até a fase de maturação fisiológica de campo (R8), sendo posteriormente realizado a avaliação dos caracteres agrônômicos e a qualidade fisiológica das sementes produzidas.

4.2.1 Coleta de material para análise

Durante a condução do experimento foram realizadas coletas de folhas no estágio vegetativo (V3) e reprodutivo (R5). As amostras foram apanhadas às 10 horas da manhã. Coletaram-se folhas do último trifólio desenvolvido, com quatro amostras por tratamento, logo após foram acondicionadas em sacos plásticos identificados e depositados em uma caixa de isopor com gelo. Após as coletas de campo, as amostras foram levadas para o laboratório, onde as folhas foram lavadas com água destilada. De cada amostra foram feitos 4 sub-amostras (repetições) de aproximadamente 1 g, congeladas imediatamente em nitrogênio líquido e mantidas em ultra freezer a 70 °C negativos até a determinação da atividade da enzima nitrato redutase.

4.2.2 Atividade da enzima nitrato redutase

Para a determinação da atividade da enzima nitrato redutase, as amostras de folhas foram retiradas do ultra freezer e maceradas em almofariz juntamente com 100mL de nitrogênio líquido (N_2) e 4ml de tampão extração (Hepes-KOH, 50 mM (pH 7,6), contendo 5 mM EDTA, 10 μ M FAD, 3%(W/V) caseína e 1 mM (DTT). Após a maceração os substratos foram colocados em eppendorfs e centrifugado a 13,200 rpm durante um período de 10 minutos a uma temperatura de 4°C. Em seguida, foi executado a purificação da proteína em colunas PD10 (Amersham Biosciences – Sephadex G25) previamente equilibradas com o tampão de ensaio (Hepes-KOH, 50 mM (pH 7,6), contendo 5 mM EDTA, 10 μ M FAD e 1 mM DTT). A próxima etapa foi adicionar 2,5 mL do sobrenadante nas colunas PD10, sendo que, essa fração foi descartada. Posteriormente foi passado 3,5mL do tampão de extração na coluna e coletado a fração da proteína purificada para análise da atividade da nitrato redutase. Imediatamente, na fração da proteína purificada foi adicionado tampão de ensaio, NADH 0.1mM e KNO_3 0.2mM, totalizando em um volume de 1mL, sendo depositados em eppendorfs, e incubados em banho maria a uma temperatura de 30°C e permitindo reagir por um período de 30 min. Após este período (30 min), a reação foi imediatamente paralisada com 125 μ L de acetato de zinco 500mM. A mistura foi centrifugada a 13,200 rpm durante 4min a 4°C e o sobrenadante utilizado para determinar a quantidade de nitrito produzida, de acordo com a metodologia de Hageman e Reed (1980). Para a determinação adicionou-se 1ml do sobrenadante 1mL de água destilada, 1mL de 1% (P/V) de sulfanilamida em HCl 1,5 N e 1mL de 0,02% (P/V)-N (naftil)-etilenodiamina 2 HCl (para a confecção da amostra em branco o sobrenadante contendo nitrito foi substituído por água destilada). A mistura ficou reagindo por um período de 30min e a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 540 nm, contra a amostra em branco. Para a obtenção dos dados foi feito uma curva de calibração de nitrito, onde suas concentrações eram conhecidas. Após a leitura, os dados foram colocados na equação da curva de calibração, em seguida os valores foram ajustados para um unidade de $nmol\ de\ NO_2^- \cdot gm\ f^{-1} \cdot h^{-1}$.

4.2.3. Procedimentos estatísticos

As análises estatísticas foram realizadas pelo conjunto de informações obtidas pela síntese dos dados de campo e em laboratório. Os dados foram

submetidos à análise de variância, sendo os efeitos dos tratamentos avaliados pelo teste F, e quando significativo às médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, e quando necessário foi realizada regressão polinomial para os fatores quantitativos. Para a determinação do grau de correlação foram utilizados os valores da atividade enzimática nitrato redutase, caracteres agrônômicos e qualidade fisiológica de sementes. Sendo que, foram obtidos a partir das análises do capítulo 1, e em seguida analisados por correlação simples de Pearson (r) a 1 e a 5% de probabilidade de erro, com recurso do programa estatístico Winstat 1.0 (MACHADO e CONCEIÇÃO, 2003).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 5, verificou-se a interação significativa entre os tratamentos, para as variáveis de atividade da enzima nitrato redutase das folhas na fase vegetativa (V3) e reprodutiva (R5).

TABELA 5. Quadrado médio da análise de variância dos efeitos de doses de molibdênio associado à aplicação de inoculante em sementes de soja na expressão da atividade da enzima nitrato redutase, obtidas no estágio vegetativo (V3) e reprodutivo (R5). UFPel, 2015.

FV	GL	Quadrado Médio	
		ANR V3	ANR R5
Inoculante	1	2015,1350*	4998,3620*
Dose	4	497,1151*	785,7109*
Inoculante X Dose	4	359,7019*	500,9832*
Resíduo	30	2,7280	8,9577
CV (%)		9,25	6,47

(*significativo ao nível de 5% de probabilidade, $0.01 \leq p < 0.05$ pelo teste F; ns = não significativo, $p \geq 0.05$ pelo teste F). Atividade da enzima nitrato redutase obtida no estágio vegetativo V3 (ANR V3), Atividade da enzima nitrato redutase obtida no estágio reprodutivo R5 (ANR R5).

Na tabela 6, foi evidenciado pela interação entre os tratamentos, que o desempenho da enzima nitrato redutase obtida das folhas coletadas no estágio vegetativo (V3) providas das plantas que receberam inoculante via semente no momento da semeadura, tiveram um desempenho superior até a dose de 48 g de molibdênio (Mo) por 100 kg^{-1} de sementes, em relação as que não tiveram adição de inoculante. Já pra a maior dose de molibdênio (64 g de Mo. 100 kg^{-1} de semente) não houve diferença estatística entre as plantas que receberam o inoculante via tratamento de sementes e as que não receberam.

Comportamento similar foi observado em relação no desempenho da enzima nitrato redutase no estágio reprodutivo (R5), evidenciado que sua atividade também foi superior para as doses zero (testemunha); 16; 32 e 48g de Mo.100 kg⁻¹ de sementes quando associadas ao inoculante. No entanto, para a dose de 64g. de Mo.100kg⁻¹ de semente, não foi verificada diferença estatística entre as plantas que receberam com as que não receberam inoculante via tratamento de sementes na ocasião da semeadura.

De acordo com Mengel e Kirkby (2001), a soja, quando em simbiose com bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, é capaz de ter a sua exigência de nitrogênio totalmente satisfeita por meio do processo de fixação biológica. Contingente, Crawford et al. (2000) observaram que durante a assimilação do nitrogênio em compostos orgânicos, o nitrato é, primeiramente, reduzido à forma amoniacal por meio de um processo que envolve a participação de duas enzimas, dentre elas a nitrato redutase.

TABELA 6. Atividade da enzima nitrato redutase obtida no estágio vegetativo V3 (ANR V3) e reprodutivo R5 (ANR R5) de plantas oriundas de sementes tratada com diferentes doses de molibdênio com presença e ausência de inoculante. UFPel, 2015.

Variável	Inoculante	Dose (molibdato de sódio (solução 127g.L ⁻¹))					Média
		0	16	32	48	64	
ANR V3	Presença	7,03a	28,62a	33,83a	28,69a	26,56a	24,95
	Ausência	4,50b	5,01b	5,14b	10,39b	28,72a	10,75
	Média	5,76	16,82	19,49	19,54	27,64	
	CV(%)	9,25					
ANR R3	Presença	50,33a	55,72a	62,22a	60,72a	58,06a	57,41
	Ausência	21,02b	21,02b	26,00b	49,55b	57,70a	35,06
	Média	35,67	38,37	44,11	55,14	57,88	
	CV(%)	6,47					

*medias seguidas da mesma letra na linha não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade de erro pelo modelo de agrupamento de Tukey.

Segundo dados de Timpo e Neyra (1983), em folhas de feijão, foram encontrados valores significativos de atividade da enzima nitrato redutase em plantas cultivadas na presença de nitrogênio. Donato et al. (2004), trabalhando com a cultura de cana de açúcar, deduziram que as bactérias fixadoras de N₂ influenciam positivamente a atividade das enzimas.

De acordo com Coelho (2001), relatou que a atividade da enzima nitrato redutase em trigo foi superior nos tratamentos em que houve inoculação das sementes com *azospirillum brasilense* em comparação aos tratamentos sem sua adição. Ao encontro dessa pesquisa, Panwar (1991) observou que sementes de trigo inoculadas aumentam de forma intensa a atividade da nitrato redutase nas plantas.

Dessa forma, a presença de bactérias fixadoras de nitrogênio, pode atuar de forma indireta na enzima, favorecendo o crescimento e desenvolvimento das plantas, o que lhes possibilitam melhor condição nutricional. Sendo que, a enzima nitrato redutase é altamente dependente de seu substrato, e as plantas avaliadas no experimento, foram supridas com inoculante, o que proporcionou a fixação biológica de nitrogênio pela bactéria *Bradyrhizobium*, permitindo que o nitrato chegue nas folhas, conferindo assim o possível aumento da atividade da nitrato redutase.

Nas figuras 3 A e B, estão apresentadas as curvas de tendência a partir da análise de regressão polinomial, para atividade da enzima nitrato redutase obtida da folha coletada no estágio vegetativo (V3) e reprodutivo (R5) de plantas originadas de sementes tratadas com diferentes doses de molibdênio associada à presença e ausência de inoculante.

Os resultados da atividade da enzima nitrato redutase em folhas coletadas no estágio vegetativo (V3), foi observado, uma resposta diferenciada das doses de molibdênio em função da ausência e presença de inoculante. Nas doses de molibdênio (Figura 3A) onde estavam combinados com a presença do inoculante, os dados encontrados, enquadrou-se em um modelo polinomial quadrático positivo, sendo que a dose que proporcionou um maior atividade da enzima foi de 39,65 g de Mo.100 kg⁻¹ de semente. A partir desta dose foi observado que houve uma queda na atividade enzimática (figura 3A).

De encontro, onde não havia a presença de inoculante, as doses de molibdênio proporcionaram um aumento na atividade enzimática em torno de 84% em relação a testemunha, sendo que, a dose que teve maior contribuição foi a de 64 g de Mo. 100kg⁻¹ de semente. Também cabe ressaltar, que com a presença do inoculante a dose de 32g de MO.100kg⁻¹ de semente, proporcionou um incremento na atividade da enzima de 33,83 nmol NO₂⁻.gmf⁻¹.h⁻¹ quando comparado a testemunha (7,03 nmol NO₂⁻.gmf⁻¹.h⁻¹). No entanto, na ausência de inoculante à

dose máxima de 64 g de Mo. 100kg^{-1} de semente, contribuiu para um atividade de $28,72 \text{ nmol NO}_2^- \cdot \text{gmf}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ em relação a testemunha ($4,50 \text{ nmol NO}_2^- \cdot \text{gmf}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$).

Na figura 3B, onde estão apresentados os dados da atividade enzimática das folhas coletadas no estágio reprodutivo (R5), foi verificado uma resposta da atividade da enzima similar ao ocorrido no estágio vegetativo (V3). Pode-se observar através da curva quadrática na presença de inoculante que a dose de molibdênio que teve maior participação na atividade da enzima foi a de $41,64 \text{ g de Mo. } 100 \text{ kg}^{-1}$ de semente. Cabe ressaltar, que a atividade enzimática a partir dessa dose, teve redução.

Em relação à resposta das doses de molibdênio na ausência de inoculante (Figura 3B), verificou-se um acréscimo na atividade da enzima nitrato redutase à medida que aumenta a dose tratada. Evidenciou-se uma participação da atividade enzimática de $57,70 \text{ nmol NO}_2^- \cdot \text{gmf}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ na dose de 64 g de Mo. 100 kg^{-1} de semente, cooperando com 63% em relação a testemunha ($21,02 \text{ nmol NO}_2^- \cdot \text{gmf}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$).

Resultados similares foram encontrados por Pessoa et al.(2001), onde aplicação foliar de molibdênio aumentou a atividade da enzima nitrato redutase em feijoeiro, sendo que, nas três épocas estudadas pelos autores, apresentou maior atividade após a aplicação do molibdênio na dose de 90 g ha^{-1} de molibdato de amônio. Da mesma forma, Toledo et al. (2010) relatam que a atividade da enzima nitrato redutase é afetada pela adubação com molibdênio, sendo maior quando o micronutriente é aplicado via foliar na dose de 60 g. ha^{-1} de molibdato de amônio. Além disso, existem trabalhos nos quais se constatam que a aplicação de molibdênio proporciona maior absorção deste micronutriente pela cultura da soja (VITTI et al., 1984) e, conseqüentemente, maior atividade da enzima redutase de nitrato (LANTMANN et al., 1989; SFREDO et al., 1997).

Da mesma forma, Coelho (2001) evidenciou que a atividade da enzima nitrato redutase, nos tratamentos com aplicação de 90 g. ha^{-1} molibdênio via foliar, foi maior quando comparada com a aplicação de 5 g. ha^{-1} de molibdênio. Estes resultados estão de acordo com Dilova et al. (1992), que observaram em plantas de trigo tratadas com molibdênio, alta atividade da enzima nitrato redutase quando comparada as não-tratadas com o micronutriente. Wang et al. (1995) também observaram que a atividade da enzima em folhas de trigo tratadas com molibdênio foram muito maiores que os tratamentos controle (sem a presença de molibdênio).

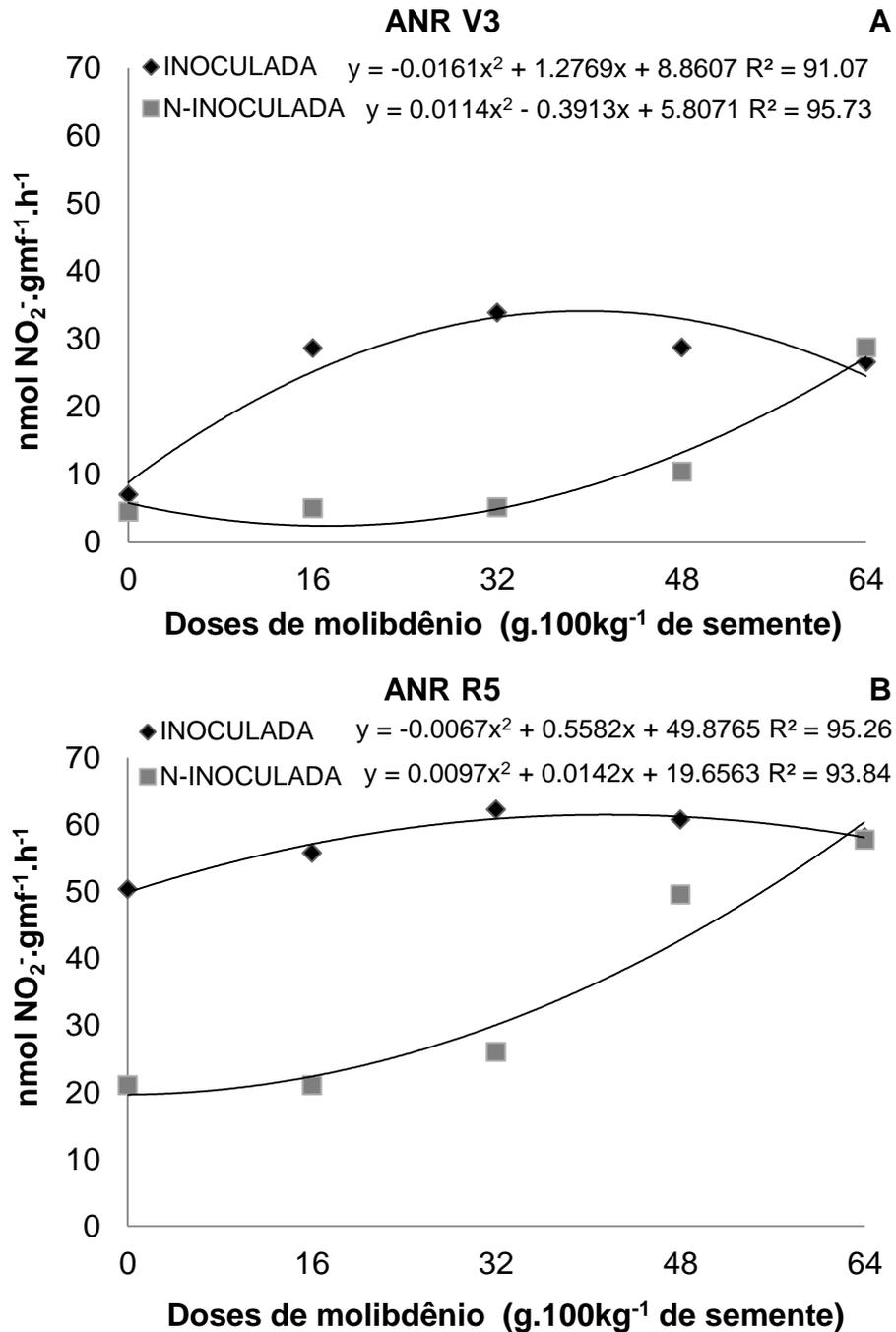


FIGURA 3. (A) - Atividade da enzima nitrato redutase obtida no estágio vegetativo (V3); (B) - Atividade da enzima nitrato redutase obtida no estágio reprodutivo (R5) de plantas oriundas de sementes tratadas com diferentes doses de molibdênio com presença e ausência de inoculante. UFPel, 2015.

De forma semelhante ao obtido neste trabalho, Cazetta e Villela (2004), verificaram, em plantas de braquiária, que a atividade da enzima nitrato redutase duplicou quando se aplicou molibdênio, em relação ao controle (sem o micronutriente). Da mesma forma, Pereira (2010), observou aumento linear da atividade nitrato redutase em função ao aumento da dose de molibdênio aplicado via

semente e Coelho et al. (1998), em plantas de feijão e milho, também notaram incremento na atividade dessa enzima, quando foi realizado a aplicação foliar de molibdênio.

Na análise dos coeficientes de correlação (Tabela 7), obtidos entre os testes de qualidade fisiológica de sementes de soja produzida e a atividade da enzima nitrato redutase, verificou-se que a atividade enzimática correlacionou-se positivamente com as variáveis de envelhecimento acelerado, massa seca de parte aérea e raiz. Evidenciado que quanto maior a atividade da enzima maior é o incremento de massa seca de parte aérea e raiz e maior e vigor das sementes.

Cabe ressaltar que, a correlação entre a atividade da enzima no estágio vegetativo (V3) com as variáveis de envelhecimento acelerado, massa seca de parte aérea e de raiz, foram significativas com uma correlação de $r = 0,43$; $r = 0,65$ e $r = 0,60$, respectivamente. Fato este observado para atividade da enzima no estágio reprodutivo (R5), que para estas mesmas variáveis obteve-se uma correlação de $r = 0,38$; $r = 0,76$ e $r = 0,63$. Além disso, podemos destacar que a atividade da nitrato redutase teve maior correlação com as variáveis massa seca de parte aérea e raiz.

TABELA 7. Correlação linear entre as variáveis relacionadas à atividade da enzima nitrato redutase e a qualidade fisiológica de sementes produzidas. UFPel, 2015.

	ANR V3	ANR V5
PCG	0,20 ^{ns}	0,01 ^{ns}
G	0,13 ^{ns}	0,03 ^{ns}
TF	0,21 ^{ns}	0,14 ^{ns}
EA	0,43*	0,38*
EC	0,04 ^{ns}	0,07 ^{ns}
CPA	0,25 ^{ns}	0,25 ^{ns}
CR	0,29 ^{ns}	0,24 ^{ns}
MSPA	0,65*	0,76*
MSR	0,60*	0,63*

**Significativo pelo teste t em nível de 1% de probabilidade de erro; * Significativo pelo teste t em nível de 5% de probabilidade de erro; ns= Não significativo pelo teste t. Primeira contagem de germinação (PCG); germinação (G); teste de frio (TF); emergência em campo (EC); envelhecimento acelerado (EA); comprimento de parte aérea (CPA); comprimento radicular (CR); massa seca de parte aérea (MSPA); massa seca radicular (MSR); atividade da enzima nitrato redutase obtida no estágio vegetativo V3 (ANR V3) e atividade da enzima nitrato redutase obtida no estágio reprodutivo R5 (ANR R5).

Na tabela 8 ficou evidenciado uma correlação positiva entre a atividade da enzima nitrato redutase e os caracteres agrônômicos avaliados. Assim, demonstrado que através da fixação de nitrogênio pela bactéria *Bradyrhizobium* e pela atividade

da enzima, foi disponibilizado o nitrogênio necessário para um bom desenvolvimento das plantas e das sementes produzidas.

De acordo com os dados apresentados na tabela 8, a correlação da atividade enzimática obtida no estágio vegetativo (V3) com os caracteres agronômicos, foi significativa e positiva, afirmando que para as variáveis peso de mil sementes; altura de planta; número de legumes por planta e número de sementes por planta, ocorreram uma contribuição da atividade enzimática de $r = 0,81$, $r = 0,62$, $r = 0,60$ e $r = 0,39$, respectivamente. Também verificou-se resultados similares para correlação da atividade enzimática obtida no estágio reprodutivo (R5) e as variáveis peso de mil sementes ($r = 0,83$), altura de planta ($r = 0,64$), número de legumes por planta ($r = 0,70$) e número de sementes por planta ($r = 0,44$). Cabe ressaltar, que a maior correlação foi obtida com a atividade da enzima nitrato redutase no estágio vegetativo e reprodutivo e a variável peso de mil sementes com um correlação de $r = 0,81$ e $r = 0,83$, respectivamente.

TABELA 8. Correlação linear entre as variáveis relacionadas à atividade da enzima nitrato redutase e os caracteres agronômicos de soja. UFPel, 2015.

	ANR V3	ANR V5
PMS	0,81**	0,83**
AP	0,62**	0,64**
NLP	0,60**	0,70**
NSP	0,39*	0,44**

**Significativo pelo teste t em nível de 1% de probabilidade de erro; * Significativo pelo teste t em nível de 5% de probabilidade de erro; ns= Não significativo pelo teste t. Peso de mil sementes (PMS); Altura de Planta (AP); Número de legumes por planta (NLP); Número de sementes por planta (NSP); Atividade da enzima nitrato redutase obtida no estágio vegetativo V3 (ANR V3) e Atividade da enzima nitrato redutase obtida no estágio reprodutivo R5 (ANR R5).

O molibdênio é um micronutriente de grande importância no processo de fixação biológica do nitrogênio atmosférico, propiciando um grande desenvolvimento da soja, quando fornecido adequadamente às plantas (VARGAS e HUNGRIA, 1997). Dentro do processo de fixação biológica de nitrogênio, o molibdênio participa como um dos catalizadores da enzima nitrato redutase, responsável pela assimilação do nitrato pelas plantas, atuando como doador de elétrons (TAIZ e ZEIGER, 2004).

Diante desse contexto, a atividade da enzima associada à fixação biológica de nitrogênio, pode favorecer para que se obtenha um melhor desenvolvimento das plantas, e conseqüentemente uma melhor qualidade fisiológica das sementes produzidas, devido a disponibilização de nitrogênio. Dessa forma, Sarmemento e

Silva, (2010) relata que a produção de proteína depende da disponibilidade de nitrogênio, sendo que a proteína é um constituinte importante, pois durante a germinação as proteínas são hidrolisadas suprindo assim o eixo embrionário, e favorecendo o desenvolvimento inicial das plântulas. Pode-se inferir que a atividade da enzima nitrato redutase, correlaciona-se direta e positivamente no desenvolvimento das plantas, além de favorecer o aumento de vigor das sementes.

4.4. CONCLUSÕES

O inoculante favorece uma maior atividade da nitrato redutase, e que na ausência de inoculante a atividade é compensada com a dose de 64 g de Mo. 100 kg⁻¹ de semente

A dose de 39,65 g de Mo. 100 kg⁻¹ de semente associada à presença de inoculante, proporcionou maior atividade enzimática no estágio vegetativo.

No estágio reprodutivo a dose que teve maior contribuição para atividade da enzima foi de 41,65 g de Mo. 100 kg⁻¹ de semente associada à presença de inoculante.

As doses de molibdênio sem a presença do inoculante proporcionam um aumento crescente da atividade da enzima nitrato redutase.

A atividade da enzima nitrato redutase teve uma correlação positiva com o envelhecimento acelerado e massa seca de plantas, e com os caracteres agronômicos.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos no trabalho, foi possível verificar que a adição de inoculante proporciona melhora na qualidade fisiológica de sementes, em relação ao vigor das sementes produzidas, evidenciado maior porcentagem no teste de envelhecimento acelerado, além de proporcionar aumento no comprimento e massa seca de parte aérea e de raiz.

O tratamento com inoculante via sementes também influenciou positivamente os caracteres agronômicos.

As sementes produzidas mediante a aplicação de molibdênio na semeadura, promoveu benefícios no vigor independente da adição ou não de inoculante, contribuindo para um crescimento linear do comprimento e massa seca de parte aérea e raiz, conforme o aumento da dose. Além disso, o aumento da dose de molibdênio afetou de forma benéfica os caracteres agronômicos, comprovando um maior peso de mil semente ao final do ciclo da cultura.

O tratamento de sementes com molibdênio associado ao inoculante proporciona maior atividade da enzima nitrato redutase. Cabe destacar, que apenas a presença do molibdênio foi capaz de promover um aumento na atividade enzimática. Entretanto, quando a dose de molibdênio foi associada ao inoculante, a atividade da enzimática foi maior em relação as que não tinham sua presença. Além disso, quando o inoculante está presente necessita-se de uma menor dose do micronutriente para se obter uma a atividade da enzima nitrato redutase superior, quando comparado as sementes que não receberam inoculante.

A atividade da enzima nitrato redutase correlacionou-se de forma positiva com os testes de vigor nas sementes produzidas (envelhecimento acelerado e massa seca da parte areia e raiz). Além de, influenciar de forma favorável os caracteres agronômicos (peso de mil sementes, numero de legumes por planta, numero de sementes por planta e altura de planta).

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOSA - **Association of Official Seed Analysts**. Seed vigor testing handbook. East Lansing, AOSA. 88p. (Contribution, 32). 1983.

ARAÚJO, F. F.; HUNGRIA, M. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum* / *Bradyrhizobium elkanii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 1633-1643, 1999.

ARAÚJO, G.A.A.; SILVA, A.A.; THOMAS, A.; ROCHA, P.R.R. Misturas de herbicidas com adubo molíbdico na cultura do Feijão. **Planta Daninha**, v.26, n.1, p.237-247, 2008.

BÁRBARO, I. M.; MACHADO, P. M.; JUNIOR, L. S. B.; TICELLI, M.; MIGUEL, F. B.; SILVA, J. A. A. Produtividade da soja em resposta á inoculação padrão e co-inoculação. **Colloquium Agrariae**, v. 5, n.1, p. 01-07. 2009.

BOMFETI, C. A.; FLORENTINO, L. A.; GUIMARÃES, A. P.; CARDOSO, P. G.; GUERREIRO, M.; MOREIRA, F .S. Exopolysaccharides produced by the symbiotic nitrogen-fixing bacteria of leguminosae, **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.35, p.657-671, 2011.

BRASIL. **Instrução Normativa n. 09**, de 02 de junho de 2005. Disponível em: <<http://abrasem.com.br/legislacao>>. Acesso em 18/11/05.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, p.395, 2009.

BRZEZINSKI, C. R.; ZUCARELI, C.; HENNING, F. A.; ABATI, J.; PRANDO, A. M.; HENNING, .A. A. Nitrogênio e inoculação com *Azospirillum* na qualidade fisiológica e sanitária de sementes de trigo. **Revista. Ciências. Agrarias**. v. 57, n. 3, p. 257-265, jul./set. 2014.

CAMPEBELL, W. H.; REDINBAUGH, M.G. Ferric-citrate reductase activity of nitrate reductase and its role in iron assimilation by plants. **Journal of Plant Nutrition**, v.7, n.1, p.799-806, 1984.

CAMPBELL, W. H. Nitrate reductase structure, function and regulation. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 50, p. 227-303, 1999.

CAMPO, R.J.; ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. Molybdenum-enriched soybean seeds enhance N accumulation, seed yield, and seed protein content in Brazil. **Field Crops Research**, v.110, p.219-224, 2009.

CAMPO, R. J.; LANTMANN, A. F. Efeitos de micronutrientes na fixação biológica do nitrogênio e produtividade da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.33, n.8, p.1245-1253, ago. 1998.

CARVALHO, C. G. P.; ARIAS, C. A. A.; TOLEDO, J. F. F.; ALMEIDA, L. A.; SOUZA, R. A.; OLIVEIRA, M. F.; HIROMOTO, D. M.; TAKEDA, C. Proposta de classificação dos coeficientes de variação em relação à produtividade e altura da planta de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 2, p. 187-193, fev. 2003

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: Funep, pp588, 2000.

CASSÁN, F.; PERRIG, D.; SGROY, V.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; LUNA, V. Azospirillum brasilense Az39 and Bradyrhizobium japonicum E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). **European Journal of Soil Biology**, v. 45, n. 3, p. 28-35, 2009.

CAZETTA, J. O.; VILLELA, L. C. V. Nitrate reductase activity in leaves and stems of tanner grass (*Brachiaria radicans* Napper). **Scientia Agricola**, v. 61, n. 6, p. 640-648, 2004.

CERETTA, C.A; PAVINATO, A.; PAVINATO, P.S.; MOREIRA, I.C.L.; GIROTTO, E.; TRENTIN, E. E . Micronutrientes na soja: produtividade e análise econômica. **Ciência Rural**, v.35, n.3, p.576-581, 2005.

CHUEIRE, L. M. O., BANGEL, E. V.; MOSTASSO, F. L.; CAMPO, R. J.; PEDROSA, F. O.; HUNGRIA, M. Classificação Taxonômica das estirpes de rizóbio recomendadas para as culturas da soja e do feijoeiro baseada no sequenciamento do gene 16S rRNA, **Revista Brasileira de Ciência do Solo** v.27 n.5, p.833-839. 2003.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC **Manual de Adubação e de Calagem para os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 10° ed. Porto Alegre: NRS/SBCS, 2004. 400p.

COELHO, F. C.; VIEIRA, C.; MOSQUIM, P. R.; CASSINI, S. T. A. Nitrogênio e molibdênio nas culturas do milho e do feijão, em monocultura e em consórcio: efeitos sobre o feijão. **Revista Ceres**, v. 45, n. 260, p. 393-407, 1998.

COELHO, M. A. O. **Atividade da nitrato redutase, composição mineral e caracteres da planta de trigo associados à aplicação de molibdênio, à peletização e à inoculação das sementes com *azospirillum brasilense***. Tese doutorado. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2001.

CONAB - **COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO**. Acomp. safra bras. grãos, v. 2 – Safra 2014/15, n. 4 – Quarto Levantamento, jan. 2015. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_01_09_09_00_21_boletim_graos_janeiro_2015.pdf. Acesso em: 15/01/2015

CRAWFORD, N. M.; KAHN, M. L.; LEUSTEK, T.; LONG, S. R. Nitrogen and sulfur. In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Eds.). **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, p. 786-849. 2000.

CRUZ, T. V. **Crescimento e Produtividade de Cultivares de Soja em Diferentes Épocas de Semeadura no Oeste da Bahia**. 87f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. 2007.

DELOUCHE, J. C.; Desempenho da Semente. **Revista SEED News**, V. 9; n.1, p. 38, 2005.

DILOVA, M.; SALCHEVA, G.; GEORGIEVA, D. Distribution of photosynthetic assimilates in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) grown on a acid soil at suboptimal temperature with excess moisture. **Fisiologiya na Rasteniata**, v.18, n.3, p.36-44, 1992.

DONATO, V. M. T. S.; ANDRADE, A. G.; SOUZA, E. S.; FRANÇA, J. G. E.; MACIEL, G. A. Atividade enzimática em variedades de cana-de-açúcar cultivadas in vitro sob diferentes níveis de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.11, p.1087-1093, nov. 2004.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA. Sistema de produção 11: Tecnologias de produção de soja – região central do Brasil 2007. Londrina: **Embrapa Soja**, 2006, 225p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Tecnologias de produção de soja, região Central do Brasil, 2005. Londrina: EMBRAPA Soja; EMBRAPA Cerrados; EMBRAPA Agropecuária Oeste; **Fundação Meridional**, 2004. 239p.

FALCÃO, V.R. **Aspectos moleculares de nitrato redutase da macroalga marinha *Gracilaria tenuistipitata* (RHODOPHYTA): seqüenciamento do gene e estudo da expressão do RNA mensageiro**. 2006. 132f. Tese (Doutorado em Química) – Curso de Pós-graduação em Química, Universidade de São Paulo, SP.

FAROOQ, M.; WAHID, A.; KADAMBOT, H.; SIDDIQUE, M. Micronutrients application through seed treatments: a review. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v.12, n. 1, p. 125-142, 2012.

FIGUEIREDO, M.V.B.; BURITY, H.A.; MARTINEZ, C.R.; CHANWAY, C.P. Alleviation of water stress effects in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by co-inoculation *Paenibacillus* x *Rhizobium tropici*. **Applied Soil Ecology**, v.40, p.182-188, 2008.

FOSSATI, M. L. **Influências do tratamento de sementes de soja com inoculante, micronutrientes e fungicidas sobre a população inicial de plantas, nodulação, qualidade de sementes e rendimento de grãos**. 2004. 23 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)- Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2004.

FRANÇA NETO, J. B. Evolução do conceito de qualidade de sementes. **Informativo ABRATES**, v. 19, n. 2, p. 76-80, 2009.

FRANCHE, C.; LINDSTRÖM K.; ELMERICH, C. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. **Plant and Soil**, v.321, n.1/2, p.35-59, 2009.

FRED, E. B.; BALDWIN, I. L.; McCOY, E. Root nodule bacteria of leguminous plants. Madison: The **University of Wisconsin Press**, 343p. 1932.

FREITAS, R.A.; NASCIMENTO, W.M. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de lentilha. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, p.59-63. 2006.

GELAIN, E.; JUNIOR, E. J. R.; MERCANTE, F. M.; FORTES, D. G.; SOUZA, F. R.; ROSA, Y. B. C. J.; Fixação Biológica de Nitrogênio e Teores Foliaves de Nutrientes na Soja em Função de Doses de Molibdênio e Gesso Agrícola. **Ciências agropecuária**, v. 35, n. 2, p. 259-269, mar./abr., 2011

GOLO, A. L.; KAPPES, C.; CARVALHO, M. A. C.; YAMASHITA, O. M. Qualidade das sementes de soja com a aplicação de diferentes doses de molibdênio e cobalto. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 31, nº 1, p.040-049, 2009.

GONÇALVES, E. C. P.; DI MAURO, A. O.; CARGNELUTTI FILHO, A. Adaptabilidade e estabilidade de genótipos de soja conduzidos em duas épocas de semeadura, na região de Jaboticabal – SP. **Científica**, v.35, n.1, p.61 - 70, 2007.

GOULART, A. C. P.; MELO FILHO, G. A. Tratamento de Sementes – Vale a pena tratar? **Revista Cultivar**. ano IV n. 44, p. 11-13, 2002.

GUALTER, R. M.R.; BODDEY, R.M.; RUMJANEK, N.G.; FREITAS, A.; XAVIER, G. Eficiência agronômica de estirpes de rizóbio em feijão-caupi cultivado na região da Pré-Amazônia maranhense. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v.46, n.3, p.303-308, 2011.

GUARESCHI, R. F.; PERIN, A. Efeito do molibdênio nas culturas da soja e do feijão via adubação foliar. **Global Science and Technology**, v. 2, n. 3, p. 08-15, 2009.

GUERRA, C.A.; MARCHETTI, M.E.; ROBAINA, A.D.; DE SOUZA, C.F.; GONÇALVES, M.C.; NOVELINO, J.O. Soybean seed physiological quality in function of phosphorus, molybdenum and cobalt fertilization. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.28, n.1, 2006.

HAGEMAN, R. H.; REED, A. J.; Nitrate reductase from higher plants. **Methods Enzymol.** 69: 270-280, 1980.

HAMLIN, R. L. Molybdenum. In: BARKER, A. V.; PILBEAM, D. J. (Ed.). Handbook of plant nutrition. **London: Taylor e Francis**,. 613 p. 2007

HENNING, A. A.; CAMPO, R. J.; SFREDO G. J. Tratamento com fungicidas, aplicação de micronutrientes e inoculação de sementes de soja. **Comunicado Técnico**, n. 58, Embrapa CNPSO, p. 1-6, 1997.

HENNING, F. A.; MERTZ, L. M.; JACOB JR., E. A.; MACHADO, R. D.; FISS, G.; ZIMMER, P. D. Composição química e mobilização de reservas em sementes de soja de alto e baixo vigor. **Bragantia**, v.69, n.3, p.727- 734, 2010

HENNING,A. A.; Patologia e tratamento de sementes: noções gerais. **Documentos**, 235. Londrina, EMBRAPA CNPSO, 51 p. 2004.

HENNING,A. A.; Patologia e tratamento de sementes: noções gerais. **Documentos**, 264. Londrina, EMBRAPA CNPSO, 52 p. 2005.

HEUWINKEL, H.; KIRKBY, E. A.; BOT, J. Le.; MARSCHNER, H. Phosphorus deficiency enhances molybdenum uptake by tomato plants. **Journal of Plant Nutrition** v.15, p.549–568. 1992.

HEWITT, E. J. A perspective of mineral nutrition: essential and functional metals in plants. In: ROBB, D. A.; PIERPOINT, W. S. (Ed.). **Metals and micronutrients: uptake and utilization by plants**. New York: Academic Press, p. 277–326. 1983.

HOLT, J.G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A. et al. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9. ed. **Baltimore: Williams & Wilkins**, p.76-170. 1994.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. Fixação biológica de nitrogênio na cultura da soja. Londrina: EMBRAPA SOJA. **Circular Técnica** n. 14, 2001. 48p.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; CAMPO, R.J.; GRAHAM, P.H. The importance of nitrogen fixation to soybean cropping in South America. In: WERNER, D.; NEWTON, W.E. (Ed.). **Nitrogen fixation in agriculture: forestry ecology and environment**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2005. p.25-42.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **International Rules for Seed Testing Association**. Zürich: ISTA, 174p. 2004.

JORDAN, D. C. Transfer of *Rhizobium japonicum* Buchanan 1980 to *Bradyrhizobium* gen. nov ., a genus of slow growing root-nodule bacteria from leguminous plants. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 32, p. 136-139, 1982.

KANNAN, S.; RAMANI, S. Studies on molybdenum absorption and transport in bean and rice. **Plant Physiology**, v. 62, p. 179–181, 1978.

KIRKBY, E. A.; RÖMHELD, V. **Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade**. Piracicaba: Potafos, 24 p. 2007.

KOLCHINSKI, E. M.; SCHUCH, L. O. B.; PESKE, S. T. Seeds vigor and intraspecific competition in soybean. **Ciencia. Rural.**, v. 35, n. 6, 2005.

KUYKENDALL, L. D.; SAXENA, B.; DEVINE, T. E.; UDELL, S. E. Genetic diversity in *Bradyrhizobium japonicum*, Jordan, 1982 and a proposal for *Bradyrhizobium elkanii*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 501-505, 1992.

LANTMANN, A. F. Nutrição e produtividade da soja com molibdênio e cobalto. **Artigos Embrapa, Coletânea Rumos e Debate**. Londrina, 2002.

LANTMANN, A. F.; SFREDO, G. J.; BORKERT, C. M.; OLIVEIRA, M. C. N. Resposta da soja a molibdênio em diferentes níveis de pH do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 13, n. 1, p. 45-49, 1989.

LINDSTRÖM, K.; KOKKO-GONZALES, P.; TEREFWORK, Z.; RÄSÄNEN, L.A. Differentiation of nitrogen-fixing legume root nodule bacteria (Rhizobia). In: COOPER, J.E.; RAO, J.R. **Molecular approaches to soil, rhizosphere and plant microorganism analysis**. Cambridge: CABI, 2006. cap. 14, p.236-258, 2006.

MACHADO, A.A.; CONCEIÇÃO, A.R. **Sistema de análise de estatística para MAGUIRE, J. D.** Speed of germination – aid in selection aid evolution for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.2, p.176-177, 1962.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo. Agronômica Ceres, 251p., 1980.

MARCHIORI, L. F. S.; CÂMARA, G. M. S.; PEIXOTO, C. P.; MARTINS, M. C. Desempenho vegetativo de cultivares de soja em épocas normal e safrinha. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 02, p. 383-390, 1999.

MARCONDES, J. A. P.; CAIRES, E. F.; Aplicação de molibdênio e cobalto na semente para cultivo da soja. **Bragantia**, v.64, n.4, p.687-694, 2005.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 495p. 2005.

MARCOS FILHO, J. Testando o vigor de Sementes. **Seed News**, n2, p12-13, 2002.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. 2.ed. **New York: Academic Press**, 1995. 889 p.

MASCARENHAS, H.A.A.; TANAKA, R. T.; WUTKE, E. B.; KIKUTI, H. . Nitrogênio: a soja aduba a lavoura da cana. **O Agrônomo**. n. 57, v. 1. 2005.

MATA F. S. D.; ALMEIDA. J. A. R.; REIS. T. C.; SOUZA. D. S.; MAURICIO. I. S. Eficiência da Fixação Biológica de Nitrogênio na Cultura da Soja com Aplicação de Diferentes Doses de Molibdênio (Mo) e Cobalto (Co): **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas** V. 5, N. 2, pág. 15, 2011.

MAUAD, M.; SILVA, T. L. B.; NETO, A. I. A.; ABREU, V. G. Influência da densidade de semeadura sobre características agrônômicas na cultura da soja. **Revista Agrarian**, v.3, n.9, p.175-181, 2010.

MEIRELES, R. C.; SILVA; R. F.; ARAÚJO, E. F. REIS, L. S.; LYRA, G. B.; MARINHO, A. B. Influência do nitrogênio e das lâminas de irrigação na qualidade fisiológica das sementes de mamoeiro. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, p.216-221, 2009.

MENDEL, R. R.; STALLMEYER, B. Molybdenum cofactor (nitrate reductase) biosynthesis in plants: First molecular analysis. In: TERZI, M.; CELLA, R.; FALAVIGNA, A. **Current issues in plant molecular and cellular biology**. Florence. p. 577-582. 1995.

MENDEL, R. R.; HANSCH, R. Molybdoenzymes and molybdenum cofactor in plants. **Journal of Experimental Botany**, v.53, n.375, p.1689-1698, 2002.

MENGEL, K.; KIRKBY, E.A. **Principles of Plant Nutrition**; International Potash Institute: Bern, Switzerland, 849, 2001.

MESCHEDE, D.K.; BRACCINI, A. de L.; BRACCINI, M. do C.L.; SCAPIM, C.A.; SCHUAB, S.R.P. Rendimento, teor de proteínas nas sementes e características agrônômicas das plantas de soja em resposta à adubação foliar e ao tratamento de

sementes com molibdênio e cobalto. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.26, n.2, p.139-145, 2004.

MILAGRE, S. T. **Análise de Estabilidade de Cluster em uma Coleção Brasileira de Bactérias Diazotróficas do Gênero Bradyrhizobium**. Dissertação, Universidade Estadual de Londrina. 2003.

MILANI, 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**, vol. 30, nº 2, p.019-027, 2008.

MILANI, G.L.; OLIVEIRA, J.A.; PEREIRA, E. de M.; CARVALHO, B.O.; OLIVEIRA, G.E.; COSTA, R.R. Aplicação foliar de molibdênio durante a maturação de sementes de soja. **Ciência e Agrotecnologia**, v.34, n.4, p.810-816, jul./ago., 2010.

MORAES, J. C. C.; PEIXOTO, C. P.; SANTOS, J. M. B.; BRANDELERO E.; PEIXOTO, M. F. S. P. SILVA V. Caracterização de dez cultivares de soja nas condições agroecológicas do Recôncavo Baiano. **Magistra**, v. 16, p. 33-41, 2004.

MUNDSTOCK, C. M.; THOMAS, A. L. Soja: fatores que afetam o crescimento e o rendimento de grãos. **Departamento de Plantas de Lavoura da Universidade Federal do Rio Grande do Sul** : Porto Alegre : Evangraf, 31 p. 2005.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: **ABRATES**, Cap. 2, p. 9-13. 1999.

NAKAO, A. H.; VAZQUEZ, G. H.; OLIVEIRA, C. O.; SILVA, J. C.; SOUZA. M. F. P. Aplicação foliar de molibdênio em soja: efeitos na produtividade e qualidade fisiológica da semente. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, v.10, n.18; p. 343, 2014.

NOTTON, B. A.; HEWITT, E. J. Structure and propieties of higher plant nitrate reductase especially *Spinacea oleracea*. In: HEWITT, E. J.; CUTTING, C. V. (Eds.). **"Nitrogen assimilation of plants"**. London: Academic Press, 1979. p. 227-244.

NUNES, J. C. Tratamento de semente - qualidade e fatores que podem afetar a sua performance em laboratório. **Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.** 2005. 16p.

OLIVEIRA, R. H.; SOUZA, M. J. L.; MORAES, O. M.; GUIMARÃES, B. V. C.; PEREIRA JUNIOR, H. A. Potencial fisiológico de sementes de mamona tratadas com micronutrientes Acta Scientiarum. **Agronomy**, v. 32, n. 4, p. 701- 707, 2010.

PANOFF, B. **Detecção do gene de peroxidase em sementes de soja pela reação da polimerase em cadeia (pcr).** 2013. 59 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

PANWAR, J. D. S. Effect of VAM and *Azospirillum brasilense* on photosynthesis, nitrogen metabolism and grain yield in wheat. **Indian Journal and Plant Physiology**, v.34, n.4, p.357-361, 1991.

PEREIRA. F. R. S. **Doses e formas de aplicação de molibdênio na cultura do milho.** Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2010.

PESKE, S. T.; BARROS, A. C. S. A.; SCHUCH, L. O. Produção de sementes. In: PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E (Orgs.). **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos.** 3.ed. Pelotas: Editora. Universitária/UFPel, 2012. p.13-104.

PESKE, S. T.; BAUDET, L. Beneficiamento de sementes. In: PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E (Orgs.). **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos.** 3.ed. Pelotas: Editora. Universitária/UFPel, 2012. p.423-480.

PESKE, S. T.; TRIGO, L. F. N.; OUTOMURO, M. F. O. **Soya: Producción y Tecnología.** Universidade Federal de Pelotas, Editora Universitária. Pelotas, 2.ed, 574p. 2005.

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 Ciências do Solo**, v.24, p.217-224, 2001.

PETERSON, N. K.; PURVIS, E. R. Development of molybdenum deficiency symptoms in certain crop plants. **Soil Science Society of America Proceedings**, 25: p7-111, 1961.

POSSENTI, J. C.; VILLELA, F. A. Efeito do molibdênio aplicado via foliar e via sementes sobre o potencial fisiológico e produtividade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 4. p. 143-150, 2010.

PURCINO, A.A.C., MAGNAVACA, R., MACHADO, A.T.; MARRIEL, I. E. Atividade da redutase do nitrato em genótipos antigos e modernos de milho, cultivados sob dois níveis de nitrogênio. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.6, n.1, 1994.

QUAGGIO, J. A.; SILVA, N. M. BERTON, R. S. Culturas oleaginosas. In: FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P. da. **Micronutrientes na agricultura**. Piracicaba: Potafos, p. 445-484, 1991.

RAMADAM, A.A; KIRKBY, E. A.; PILBEAM, D. J. Evidence That Sulfur Deficiency Enhances Molybdenum Transport in Xylem Sap of Tomato Plants. **Journal of Plant Nutrition**, 28: 1347–1353, 2005.

RAMPIM, L.; PERES RODRIGUES-COSTA, A. C. P.; NACKE, H.; KLEIN, J.; GUIMARÃES, V. F. Qualidade fisiológica de sementes de três cultivares de trigo submetidos à inoculação e diferentes tratamentos. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 4, p. 678 - 685, 2012.

ROSSI, R. L.; SILVA, T. R. B.; TRUGILO, D. P.; REIS, A. C. S.; FARIAS, C. M. Q. Adubação foliar com molibdênio na cultura da soja. **Journal of Agronomic Sciences**, v.1, n.1, p. 12-23, 2012.

SAMPAIO, N.V.; SAMPAIO, G.T.; DURÁN, J.M. Avaliação da qualidade de sementes através da condutividade elétrica dos exsudatos de embebição. **Informativo ABRATES**, v. 5, n. 3, p. 39-52, 1995.

SANTANA, M. J.; SOUSA, F. C. A.; SILVEIRA, A. L.; SILVA, C. A. Aplicação de cobalto, molibdênio e inoculante na cultura da soja (*Glycine max* L. merrill): **GI. Sci. Technol.**, v. 04, n. 02, p.01. 2011.

SANTOS, O. S. Molibdênio. In: FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P. da. **Micronutrientes na agricultura**. Piracicaba: Potafos, p. 191-217, 1991.

SANTOS, O.S. dos; ESTEFANEL, V. Efeito de micronutrientes e do enxofre aplicados nas sementes de soja. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, v.16, n.1, p.5-17, 1986.

SARMENTO, M. B.; SILVA, C. S. Nutrientes minerais e qualidade fisiológica de sementes. In: SARMENTO, M. B.; SILVA, C. S.; VILLELA, F. A. (Orgs.). **Temas especiais em ciência e tecnologia de sementes**. 1.ed. Pelotas: Editora. Universitária/UFPel,. p.62-86. 2010.

SCOTT, J.M. Seed coatings and treatments and their effects on plant establishment. **Advances in Agronomy**, v. 42, p. 43-83, 1989.

SEDIYAMA, T. (Org.). Tecnologias de produção e usos da soja. Londrina, PR: **Mecenas**, v. 1. 314 p. 2009.

SFREDO, G. J.; BORKERT, C. M.; NEPOMUCENO, A. L.; OLIVEIRA, M. C. N. Eficácia de produtos contendo micronutrientes, aplicados via semente, sobre produtividade e teores de proteína da soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 21, p. 41-45, 1997.

SILVA, A. F. da; SCHONINGER, E. L.; MONTEIRO, S.; CAIONE, G.; CARVALHO, M. A. C. de; DALCHIAVON, F. C.; NOETZOLD, R. Inoculação com bradyrhizobium e formas de aplicação de cobalto e molibdênio na cultura da soja, **Revista Agrarian**, v. 4, n. 12, p. 98 - 104, 2011.

SILVEIRA, J.A.G.; FIGUEIREDO, M.V.B.; CAVALCANTI, F.R.; FERREIRA-SILVA, S.L. 2011. Legume Nodule Oxidative Stress and N₂ Fixation Efficiency. In: *Microbial Ecology of Tropical Soils*. **New York: Nova Science Publishers Inc.** v. 1, p.9-78. 2011.

SMIDERLE, O. J.; MIGUEL, M. H.; CARVALHO, M. V.; CÍCERO, S. M. Tratamento de feijão com micronutrientes: Embebição e Qualidade Fisiológica. **Revista Agro@ambiente on-line**, v.2, n.1, p.1982-8470, 2008.

SOLOMONSON, L. P.; BARBER, M. J. Assimilatory nitrate reductase: functional properties and regulation. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 41, p. 225-253, 1990.

SOMASEGARAN, P.; HOBEN, H.J. Handbook for rhizobia. **New York: Springer-Verlag**, 450p. 1994.

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

TAYLOR, A.G.; ALLEN, P.S.; BENNETT, M.A.; BRADFORD, K.J.; BURRIS, J.S.; MISRA, M.K. Seed enhancements. **Seed Science Research**, v. 8, p. 245–256, 1998.

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

TESFAMARIAM, T.; RÖMHELD, V.; NEUMANN, G. P. Deficiency-induced root exudation of carboxylates contributes to Mo acquisition in leguminous plants. In: HARTMANN, A. (Ed.). **Rhizosphere perspectives and challenges – a tribute to Lorenz Hiltner**. Munich: Neuberger. 2004.

TIMPO, E.E.; NEYRA, C.A. Expression of nitrate and nitrite reductase activities under various forms of nitrogen nutrition in *Phaseolus vulgaris* L. **Plant Physiology**, v.72, p.71-75, 1983.

TIRITAN, C.S.; FOLON, J.S.S.; SÃATO, A.M.; MENGARDA, C.A.; SANTOS, D.H. Influência do molibdênio associado ao cobalto na cultura da Soja, aplicados em diferentes estágios fenológicos. **Colloquium Agrariae**, v.3, p.01-07, 2007.

TOLEDO, M. Z.; FONSECA, N. R.; CESAR, M. L.; SORATTO, R. P.; CAVARIANI, C.; CRUSCIOL, C. A. C. Qualidade fisiológica e armazenamento de sementes de feijão em função da aplicação tardia de nitrogênio em cobertura. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.39, p.124-133, 2009.

TOLEDO, M. Z; GARCIA, R. A.; PEREIRA, M. R. R.; BOARO, C. S. F.; LIMA, G. P. P. Nodulação e atividade da nitrato redutase em função da aplicação de molibdênio em soja. **Bioscience. Jornal.**, v. 26, n. 6, p. 858-864, 2010.

USDA- United States Department of Agriculture.
<http://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/latest.pdf> . Acesso em 18/01/2015.

VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Biologia dos solos dos cerrados**. Planaltina : Embrapa-CPAC, p. 295-360. 1997.

VIEIRA, C.; NOGUEIRA, A. O.; ARAÚJO, G. A. A. Adubação nitrogenada e molíbdica na cultura do feijão. **Revista de Agricultura**, v. 67, n. 2, p. 117-124, 1992.

VIEIRA, R. F.; FERREIRA, A. C. B.; PRADO, A. L. Aplicação foliar de molibdênio em feijoeiro: conteúdo do nutriente na semente e desempenho das plantas originadas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.41, n.2, p.163-169, 2011.

VISTOSO, E.; MORA, M.L. & BOLAN, N. Phosphorus and Mo interactions in the Andisols of Chile. In: **Developments in fertilizer application technologies and nutrient management**. Auckland. Proceedings. Auckland, Massey University,. p.245-257 2005.

VITTI, G. C.; FORNASIERI FILHO, D.; PEDROSO, P. A. C.; CASTRO, R. S. A. Fertilizante com molibdênio e cobalto na cultura da soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 8, p. 349-352, 1984.

WANG, Y. H.; WEI, W. X.; TANG, Q. L. Study on the Mo deficiency of winter wheat and Mo application in the yellow-brown earths in Hubei. **Soils and Fertilizers Beijing**, v.1, n.3, p.24-28, 1995.

WANG, Z. Y.; TANG, Y. L.; ZHANG, F. S. Effect of molybdenum on growth and nitrate reductase activity of winter wheat seedlings as influenced by temperature and nitrogen. **Journal of Plant Nutrition**, v.22, n.2, p. 387-395, 1999.

WARNER, R. L.; KLEINHOF, A. Genetics and molecular biology of nitrate metabolism in higher plants. **Plant Physiology**, v. 85, p. 245-252, 1992.

WEIR, B.S. 2011. The current taxonomy of rhizobia. **New Zealand rhizobia website**. Disponível em: <<http://www.rhizobia.co.nz/taxonomy/rhizobia.html>>. Acesso em: 10 fev. 2015.

YAGUSHI, J. T.; COSTA, D. S.; FRANÇA-NETO, J. B. Saturated salt accelerated aging and computerized analysis of seedling images to evaluate soybean seed performance. **Journal of Seed Science**, v.36, n.2, p.213-221, 2014.

YOKOMIZO, G. K.; DUARTE, J. B.; VELLO, N. A. Correlações fenotípicas entretamanho de grãos e outros caracteres em topocruzamentos de soja tipo alimento com tipo grão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 11, p. 2235-2241, 2000.

ZILLI, J.E.; SILVA NETO, M.L.; FRANÇA JÚNIOR, I.; PERIN, L.; MELO, A.R. Resposta do feijão-caupi à inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium* recomendadas para a soja. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.35, p.739-742, 2011.

ZIMMER, P. D. Fundamentos da qualidade de sementes. In: PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E (Orgs.). **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 3.ed. Pelotas: Editora. Universitária/UFPel, p.106-160. 2012.

Anexo



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL
 Departamento de Solos
 Laboratório de Análise de Solos



Campus Universitário s/nº Caixa Postal 354
 CEP 96010-900 Pelotas - RS
 Fone/Fax (0xx53) 3275-7269/(0xx53) 3275-7267

Nome: **Jucilaine Vieira**
 Município: **Pelotas**
 Localidade:

Solicitante: **Jucilaine Vieira**
 Endereço:
 Entrada: **24/01/2014**

Emissão: **20/02/2014**

Registro	Identificação da Amostra	Área (ha)	Sistema de cultivo	Profundidade	Georef.
4	01	--X--	--X--	--X--	--X--

Diagnóstico para acidez do solo e calagem

"pH em água 1:1; Ca, Mg, Al, e Mn trocáveis extraídos com KCl 1 mol L⁻¹ e CTC a pH 7,0."

Registro	pH água 1:1	Ca	Mg	Al	H+Al	CTC efetiva	Saturação (%)		Índice SMP
		cmol _c /dm ³					Al	Bases	
4	4,7	2,1	1,4	1,0	7,7	4,7	21,3	33	5,5

Diagnóstico para macronutrientes e recomendação de adubação NPK-S

"Argila determinada pelo método do densímetro; MO por digestão úmida e P, K, Na, Zn e Cu determinados pelo método de Mehlich I."

Registro	% MO	% Argila	Classe de Argila	S	P-Mehlich	K	CTC _{pH7}	K
	m/v			mg/dm ³			cmol _c /dm ³	
4	1,52	24	3	--X--	4,6	64	11,4	0,16

Diagnóstico para micronutrientes e relações molares

"S-SO₄ extraído com CaHPO₄ 500 mg L⁻¹ de P³⁺ e B extraído com água quente."

Registro	Cu	Zn	B	Mn	Na	% Fe	Relações Molares		
	mg/dm ³						Ca/Mg	Ca/K	Mg/K
4	1,6	0,9	--X--	76	16	0,26	1,50	13,12	8,75

CONSULTE UM AGRÔNOMO PARA OBTER AS RECOMENDAÇÕES DE ADUBAÇÃO

Os resultados contidos neste documento têm significação restrita e se aplicam somente a(s) amostra(s) ensaiada(s). A(s) amostra(s) ensaiada(s) permanecerá(ão) à disposição do cliente por 30 (trinta) dias consecutivos a contar da data de emissão do Relatório de Ensaio, desde que haja quantidade suficiente. Após este período a(s) amostra(s) será(ão) descartada(s) sem aviso prévio. Não é permitida a reprodução parcial deste documento.

Renata Peixoto Eid

Eng^o Agr^o Renata Peixoto Eid
 CREA n^o 92748 - 8^o Região
 Responsável Técnico

