

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

RAFAELE CRISTINA NEGRI

POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE SOJA
ENRIQUECIDAS COM MOLIBDÊNIO NO ARMAZENAMENTO E SUA
INFLUÊNCIA NA ATIVIDADE DE ENZIMAS DO METABOLISMO DO
NITROGÊNIO

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO
2015

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

RAFAELE CRISTINA NEGRI

**POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE SOJA
ENRIQUECIDAS COM MOLIBDÊNIO NO ARMAZENAMENTO E SUA
INFLUÊNCIA NA ATIVIDADE DE ENZIMAS DO METABOLISMO DO
NITROGÊNIO**

DISSERTAÇÃO

**PATO BRANCO
2015**

RAFAELE CRISTINA NEGRI

**POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE SOJA
ENRIQUECIDAS COM MOLIBDÊNIO NO ARMAZENAMENTO E SUA
INFLUÊNCIA NA ATIVIDADE DE ENZIMAS DO METABOLISMO DO
NITROGÊNIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Tathiana E. Masetto

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Marisa De Cacia Oliveira

PATO BRANCO

2015

N 386 p

Negri, Rafele Cristina

Potencial Fisiológico de sementes de soja enriquecidas com molibdênio no armazenamento e sua influência na atividade de enzimas do metabolismo do nitrogênio / Rafele Cristina Negri

Pato Branco. UTFPR, 2015

60 f. : il. ; 30 cm

Orientador: Prof. Dr. Tathiana Elisa Masetto

Coorientador: Prof. Dr. Marisa de Cacia Oliveira

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, 2015.

Bibliografia: f: 56- 60

1. Germinação. 2. Glutamina Sintetase I. Masetto, Tathiana Elisa, orient. II. Oliveira, Marisa de Cacia, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDD (22. ed.) 620

Ficha catalográfica elaborada por

Maria Juçara Vieira da Silveira CRB-9/1359

Biblioteca da UTFPR, Campus Pato Branco



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação n.º 119

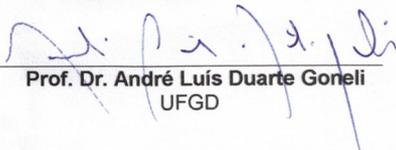
Potencial Fisiológico de Sementes de Soja Enriquecidas com Molibdênio No Armazenamento e Sua Influência na Atividade de Enzimas do Metabolismo do Nitrogênio

por

Rafaele Cristina Negri

Dissertação apresentada às quatorze horas do dia vinte e sete de maio de dois mil e quinze, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRA EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Sistemas de Produção Vegetal, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:



Prof. Dr. André Luís Duarte Goneli
UFGD

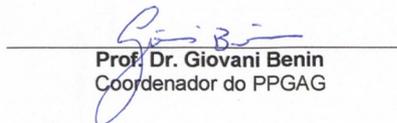


Profª. Dra. Marisa de Cassia Oliveira
UTFPR/PB



Profª. Dra. Tathiana Elisa Masetto
Orientadora

Visto da Coordenação:



Prof. Dr. Giovani Benin
Coordenador do PPGAG

*Dedico, a Deus, aos meus pais
e ao meu irmão fonte inesgotável do meu amor!*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a DEUS, sem o qual nada disso seria possível.

A minha orientadora, Professora Dra Tathiana Elisa Masetto, e minha Coorientadora Professora Dra. Marisa de Cacia Oliveira por terem acreditado e confiado em meu trabalho, pelo carinho, paciência, tolerância, amizade e companheirismo. Por terem dedicado parte de seu tempo, em reuniões, orientações, revisões, correções e sugestões, as quais foram imprescindíveis para o bom andamento e enriquecimento da pesquisa.

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia e seus professores, pela oportunidade e troca de conhecimento.

A Microquímica pelo fornecimento do material para pesquisa e ao Laboratório de Análise de Sementes Seedtes pelo suporte para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao meu namorado Tiago Belusso Santin, pela sua ajuda e incentivo.

Aos meus pais, Pedrinho e Salete: de vocês recebi o dom mais precioso a “vida”, revestindo toda ela de carinho, amor, dedicação e sempre me apoiando, ensinando, compreendendo, tendo sempre o estudo e o meu bem-estar em primeiro lugar. Sem os seus esforços e seus exemplos de humildade e dignidade eu não teria chegado até aqui! Eternamente grata.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente colaboraram e torceram pela concretização de mais esta etapa.

“Quando tudo nos parece dar errado, acontecem coisas boas, que não teriam acontecido se tudo tivesse dado certo”.

(Renato Russo)

RESUMO

NEGRI, Rafaela Cristina. Potencial fisiológico de sementes de soja enriquecidas com molibdênio no armazenamento e sua influência na atividade de enzimas do metabolismo do nitrogênio. 60 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2015.

O molibdênio é um dos micronutrientes essenciais para a soja, atuando diretamente no metabolismo do nitrogênio como cofator benzimático da nitrogenase. Usualmente, este nutriente é fornecido às plantas via tratamento de sementes ou aplicação foliar. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do molibdênio via foliar no potencial fisiológico de sementes de soja e verificar sua interferência na atividade das enzimas envolvidas no metabolismo do nitrogênio. Foram utilizadas sementes de soja da cultivar BMX Turbo, produzidas em Erechim, RS, safra 2013, provenientes de plantas tratadas com as seguintes concentrações de Mo: 0; 25; 50 e 75 g ha⁻¹, fornecidas por meio de dois produtos comerciais (Biomol e Molybdate) e armazenadas durante 0 e 6 meses em condições não controladas. O primeiro experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes Seedtes em Pato Branco, PR. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 2 x 2 com quatro repetições cada. O potencial fisiológico das sementes foi avaliado por meio do teste de germinação, crescimento de plântulas, envelhecimento acelerado e emergência em solo. O segundo experimento foi realizado em casa de vegetação onde foram cultivadas em vasos as sementes oriundas dos tratamentos com diferentes concentrações de Mo: 0; 25; 50 e 75 g ha⁻¹ fornecidas por meio de dois produtos comerciais (Biomol e Molybdate). O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 X 2 com quatro repetições. As avaliações foram realizadas quando as plantas atingiram o estágio fenológico R1 quanto à nodulação, massa seca de raiz e parte aérea das plantas e determinação da atividade das enzimas glutamina sintetase e glutamato sintetase e o teor de proteínas solúveis totais. Os dados foram submetidos à análise de variância e quando significativos foram avaliados pelo teste de Tukey para comparação dos produtos e do armazenamento de sementes e com estudo de regressão para as concentrações ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram realizadas com o software estatístico SISVAR. O armazenamento de sementes de soja em condições não controladas afetou o vigor das sementes produzidas com Mo, independente do produto comercial utilizado durante a produção. A aplicação de Mo via foliar influencia positivamente a produção de sementes de soja que apresentaram respostas crescentes na germinação e no vigor com a aplicação de Mo acima de 25 g ha⁻¹. O enriquecimento de Mo via foliar não afetou a nodulação das plantas da geração seguinte, porém, a utilização de Mo acima de 25 g ha⁻¹ proporcionou aumento na atividade das enzimas envolvidas no metabolismo do nitrogênio, bem como no teor de proteínas totais.

Palavras-chave: Germinação de Sementes. Glutamina Sintetase. Glutamato Sintase.

ABSTRACT

NEGRI, Rafaela Cristina. Physiological potential of soybean seeds enriched with molybdenum in storage and its influence on the activity of nitrogen metabolism enzymes. 60 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Federal Technology University of Paraná. Pato Branco, 2015.

Molybdenum is one of the essential micronutrients for soybeans, acting directly on nitrogen metabolism as enzyme cofactor of nitrogenase. Usually, this nutrient is supplied to the plants through seed treatment or foliar application. The aim of this study was to evaluate the molybdenum effects by foliar in the physiological potential of soybean seeds and verify its interference in the enzyme activities involved in nitrogen metabolism. Soybean seeds of BMX Turbo cultivar were used, produced in Erechim, RS, harvest 2013, from plants treated with the following Mo concentrations: 0; 25; 50 and 75 g ha⁻¹, supplied through two commercial products (Biomol and Molybdate) and stored during 0 and 6 months in uncontrolled conditions. The first experiment was conducted in Seedtes Seed Analysis Laboratory in Pato Branco, PR. The used design was completely randomized in a factorial analysis 4 x 2 x 2 with four replications each. The physiological potential of the seeds was evaluated by the germination test, seedling growth, accelerated aging and emergence on the soil. The second experiment was conducted in a greenhouse, where the seeds derived from treatments with different concentrations of Mo: 0; 25; 50 and 75 g ha⁻¹ supplied through two commercial products (Biomol and Molybdate) were grown in vases. The used design was completely randomized in a factorial analysis 4 x 2 with four replications. Evaluations were performed when the plants reached the R1 phenological stage concerning the nodulation, dry matter of root and shoot of the plants and the determination of the activity of the enzymes glutamine synthetase and glutamate synthetase and the content of total soluble proteins. The data were submitted to variance analysis and when significant they were assessed by Tukey's test for comparison of products and seed storage and with regression study to the concentrations at 5% probability. Analyses were performed using SISVAR statistical software. The soybean seed storage under uncontrolled conditions affected the seed vigour produced with Mo, regardless of the commercial product used during production. The application of Mo through foliar positively influences the production of soya beans which presented increasing responses in the germination and vigour with the application of Mo above 25 g ha⁻¹. The enrichment of Mo through foliar did not affect the nodulation of plants of the next generation, however, the use of Mo above 25 g ha⁻¹ provided an increase in the activity of enzymes involved in nitrogen metabolism as well as on the total protein content.

Keywords: Germination seeds. Glutamina Sintetase. Glutamato Sintase.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 01** - Rota metabólica da GS e GOAT (Fonte MASCLAUX-DAUBRESS et al., 2010). UTFPR campus Pato Branco 2015.....21
- Figura 02** - Temperatura média (0C) registrada no ambiente de armazenamento das sementes de soja (cultivar BMX Turbo). UTFPR, Pato Branco. 2015.28
- Figura 03** - Valores médios de germinação (G) de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (Mo) g ha-1. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.....32
- Figura 04** - Valores médios para comprimento de raiz (CR) de plântulas de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (g ha-1) oriundas de dois produtos. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.....34
- Figura 05** - Valores médios para comprimento de parte aérea (CPA) de plântulas de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (Mo) g ha-1. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.....35
- Figura 06** - Valores médios de massa seca de parte aérea (MSPA) de plântulas de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (Mo) g ha-1. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.....36
- Figura 07** - Valores médios de massa seca de raiz (MSR) de plântulas de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (Mo) g ha-1. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.....37
- Figura 08** - Valores médios de Envelhecimento acelerado de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (Mo) g ha-1. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.....38
- Figura 09** - Valores médios de Emergência em campo de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (Mo) g ha-1. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.39
- Figura 10** - Valores médios para massa seca de parte aérea de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (Mo) g ha-1. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.....49
- Figura 11** - Atividade da síntese da glutamina (μmol de GGH/g MF) em plantas de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (Mo) g ha-1. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.....50
- Figura 12** - Atividade da síntese do glutamato (μmol de NADH reduzido/g MF) em plantas de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (Mo) g ha-1. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.....51
- Figura 13** - Teor de proteínas (μg de proteínas g-1 de MF) em plantas de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (Mo) g ha-1. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.....53

LISTA DE TABELAS

- Tabela 01** - Resumo das análises de variância da germinação (G), comprimento de raiz (CR) e de parte aérea (CPA), massa seca de raiz (MSR) e de parte aérea (MSPA), envelhecimento acelerado (EA) e emergência em solo (EMERG) de sementes de soja, cultivar BMX Turbo produzidas com diferentes produtos (P) e concentrações de molibdênio(C) e submetidas ao armazenamento (A). UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.....31
- Tabela 02** - Resultados médios de comprimento de raiz (CR) e de parte aérea (CPA) e envelhecimento acelerado (EA) de sementes de soja produzidas com diferentes fontes de molibdênio e submetidas ou não ao armazenamento. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015..... 33
- Tabela 03** - Comprimento de raiz (cm) de sementes de soja produzidas com diferentes fontes de molibdênio e submetidas ou não ao armazenamento (meses). UTFPR, Campus Pato Branco, 2015..... 33
- Tabela 04** - Análise química do solo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.....44
- Tabela 05** - Resumo das análises de variância de nódulos por plantas (NP), massa seca de raiz (MSR) e de parte aérea (MSPA), atividade da glutamina sintetase (GS), atividade da glutamato sintase (GOGAT) e proteínas solúveis totais (PROT).Cultivar BMX Turbo produzidas com diferentes produtos (P) e concentrações de molibdênio©. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.....48

LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS

MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
PR	Unidade da Federação – Paraná
RS	Unidade da Federação – Rio Grande do Sul
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP	Adenosina Trifosfato
FBN	Fixação Biológica de Nitrogênio
cm	Centímetro
g	Gramas
GOGAT	Glutamato Sintetase
GS	Glutamina Sintetase
ha	hectare
Kg	Quilograma
mL	Mililitro
Mo	Molibdênio
N	Nitrogênio
NH ₃	Amônia
NH ₄ ⁺	Amônio
NO ₃	Nitrato
pH	Potencial Hidrogênico
pl	Planta

LISTA DE SÍMBOLOS

% Porcentagem

µg Micrograma

.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES.....	17
2.2 ADUBAÇÃO COM MOLIBDÊNIO EM SOJA.....	18
2.3 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO	19
2.4 ASSIMILAÇÃO DO NITROGÊNIO EM PLANTAS.....	20
3 CAPITULO I – POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE SOJA ENRIQUECIDAS COM MOLIBDÊNIO NO ARMAZENAMENTO.....	24
3.1 RESUMO.....	24
3.2 ABSTRACT:.....	25
3.3 INTRODUÇÃO.....	26
3.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	31
3.6 CONCLUSÕES.....	39
4 CAPÍTULO II – EFEITO DO ENRIQUECIMENTO DE MOLIBDÊNIO EM SEMENTES DE SOJA NA ATIVIDADE DE ENZIMAS DO METABOLISMO DO NITROGÊNIO.....	40
4.1 RESUMO.....	40
4.2 ABSTRACT:.....	41
4.3 INTRODUÇÃO.....	42
4.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
5.6 CONCLUSÕES.....	54
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	55
REFERÊNCIAS.....	56

1 INTRODUÇÃO GERAL

A soja (*Glycine max*) é a cultura anual brasileira de maior expressão econômica e a que mais cresceu nas últimas três décadas correspondendo, na safra 2013/2014, a um aumento de 8,8% (2.437 mil hectares) em relação a safra 2012/2013 da área plantada de grãos no país (CONAB, 2013). Entre os fatores responsáveis pela alta competitividade encontra-se a capacidade de fixação biológica de nitrogênio, dispensando, assim, o uso de adubos nitrogenados.

Para atingir elevada produtividade é necessário o eficiente desenvolvimento inicial da cultura e estande de plantas adequado. Nesse sentido, o setor sementeiro decorrente da existência das tecnologias empregadas às culturas, busca a qualidade das sementes e a manutenção da mesma quando submetidas ao armazenamento para, desta forma, garantir o desenvolvimento esperado a campo.

Os quatro componentes básicos da qualidade das sementes (genético, físico, fisiológico e sanitário) apresentam importância equivalente, mas o potencial fisiológico tem recebido maior atenção da pesquisa, talvez porque o estabelecimento do estande constitui base sólida para a obtenção de alta produtividade e por constituir a primeira oportunidade para que o produtor avalie “in loco” o desempenho inicial das sementes adquiridas (MARCOS FILHO, 2013). Nesse sentido, para obter sementes com qualidade elevada é necessário que, além de outros fatores, seja realizada a nutrição adequada das plantas. O enriquecimento com molibdênio (Mo) via foliar é uma prática promissora que visa auxiliar a manutenção da qualidade das sementes de soja bem como promover o melhor desenvolvimento a campo (LEITE et al., 2009).

Aliados à busca por elevadas produtividades, o melhoramento genético seleciona cultivares de soja mais eficientes na fixação do nitrogênio atmosférico, dispensando assim os gastos com uso de fertilizantes nitrogenados. O nitrogênio é um elemento chave na síntese de proteínas, cuja demanda é elevada na cultura, que acumula cerca de 100 a 200 kg de nitrogênio por hectare, sendo 67 a 75% alocados nas sementes (MANFRON et al., 2004). Esse nutriente pode ser absorvido diretamente do solo ou ser fornecido pela fixação biológica do nitrogênio (FBN), decorrente da associação simbiótica das bactérias do gênero *Bradyrhizobium*,

capazes de fixar nitrogênio atmosférico. A estimativa da necessidade de N é de 80 kg para a produção de 1000 kg de grãos (HUNGRIA et al., 2001).

No processo de fixação biológica de nitrogênio o Mo tem papel fundamental por participar como cofator da enzima nitrogenase e também do complexo enzimático da nitrato redutase (TAIZ; ZEIGER, 2009). A quantidade requerida deste nutriente pela planta é pequena, porém, a sua disponibilidade no solo normalmente é muito baixa por ser altamente afetada pelo pH, estando mais disponível em solos mais alcalinos. Os solos agrícolas em sua maioria, encontram-se com pH próximo a 5,0, tornando o Mo indisponível.

Usualmente o fornecimento de Mo é realizado por agricultores via tratamento de sementes ou via foliar em pré-florescimento, porém estas formas de aplicação podem acarretar prejuízos à cultura. O enriquecimento via tratamento de sementes pode reduzir a sobrevivência do *Bradyrhizobium* prejudicando, assim, a nodulação e a FBN (ALBINO; CAMPO, 2001). O fornecimento via foliar na fase reprodutiva pode acarretar em perda da produtividade devido à deficiência nas fases iniciais da cultura, sendo que, neste contexto, fazem necessários estudos para verificar o efeito do enriquecimento de sementes via foliar na fase de produção das sementes, visando garantir maiores produtividades com a possibilidade de produção de sementes enriquecidas.

Diante da influência do molibdênio na fixação biológica de nitrogênio da cultura da soja, as informações sobre os efeitos do referido elemento fornecido por meio de diferentes produtos comerciais e concentrações sobre o potencial fisiológico das sementes de soja submetidas ao armazenamento e a avaliação da interferência do elemento na atividade das enzimas envolvidas no metabolismo do nitrogênio constituem ferramentas importantes para a tecnologia de produção de sementes de soja com qualidade.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES

A qualidade de sementes define o conjunto de características que determinam o potencial de desempenho da semente após a semeadura em campo ou durante o armazenamento. Pode ser definida como o conjunto de atributos genéticos, físicos, sanitários e fisiológicos, podendo, o componente fisiológico ser avaliado pela germinação e vigor (MARCOS FILHO, 2005) e sua avaliação segura permite identificar lotes de sementes que possuem maior probabilidade de apresentar o desempenho desejado durante o armazenamento e em campo (MARCOS FILHO, 2013).

A manutenção da qualidade das sementes durante o período de armazenamento deve ser considerada dentro do processo produtivo independente da cultura, uma vez que o sucesso da próxima safra depende, principalmente, da utilização de sementes com alto padrão de qualidade. No armazenamento sob condições não controladas, as sementes ficam expostas a oscilações de temperatura e umidade relativa e ao ataque de pragas e fungos, o que pode contribuir para a redução da qualidade das mesmas (LUDWIG et al., 2011).

Os testes que avaliam o vigor das sementes baseiam-se em aspectos que podem estar relacionados à fisiologia, a processos metabólicos ou, até mesmo, as características físicas das sementes (SCHUAB et al., 2006). São muito utilizados por empresas sementeiras com controle interno de qualidade os testes de envelhecimento acelerado, comprimento e massa de plântula por apresentarem boa correlação com a emergência a campo (SCHUAB et al., 2006; VANZOLINI et al., 2007).

O potencial fisiológico das sementes pode ser afetado por diversos fatores, entre eles a nutrição da planta-mãe (MARCOS FILHO, 2013). Durante o seu desenvolvimento as sementes acumulam reservas de nitrogênio, carboidratos, lipídios e minerais (JACOB-NETO; ROSSETO, 1998; CARVALHO; NAKAGAWA, 2000; MARCOS FILHO, 2005) que são responsáveis pela capacidade de emergência das plântulas no campo e o vigor no desenvolvimento inicial, sendo tais

características influenciadas pelo estado nutricional da planta-mãe (MARCOS FILHO, 2005; TEIXEIRA et al., 2005).

Ascolli et al. (2008), avaliando a aplicação foliar de Mo em diferentes fases fenológicas da cultura do feijão, verificaram influência positiva do Mo aplicado via foliar (75 g ha^{-1} aos 23 DAE) no crescimento das plantas e também observaram que sementes oriundas de plantas que receberam Mo produziram plantas com maior massa seca.

Leite et al. (2009) verificaram, em sementes de feijão, uma relação entre o conteúdo de molibdênio da semente e sua influência sobre o potencial de germinação. Sementes com baixa concentração em molibdênio apresentaram germinação reduzida em comparação àquelas com reservas expressivas do micronutriente, e também observaram que sementes com concentração de MO acima de $1,45 \mu\text{g semente}^{-1}$ apresentaram estabilidade na germinação não ficando esta prejudicada com a elevação da concentração. Por outro lado, Possenti; Vilella (2010), trabalhando com Mo na concentração de 800 g ha^{-1} via foliar em duas aplicações não observaram efeito significativo na qualidade fisiológica de sementes de soja, concluindo que o enriquecimento não foi transferido para as próximas gerações.

2.2 ADUBAÇÃO COM MOLIBDÊNIO EM SOJA

O Mo usualmente é fornecido às plantas de forma direta, via tratamento de sementes, contudo, o contato direto das sementes com as soluções comerciais tem provocado redução do poder germinativo e aumento na mortalidade de rizóbios, reduzindo a nodulação (MILANI et al., 2008) e desta forma, prejudicando a fixação biológica do nitrogênio (ALBINO; CAMPO, 2001).

No solo, o molibdênio está presente na forma disponível para a planta como MoO_4^{-2} e é diretamente influenciada pelo pH e por óxidos de Al e Fe, sendo que em solos com pH mais elevado a presença do íon OH^- faz com que o Mo adsorvido aos coloides se desprenda e passe para a solução do solo (TANAKA et al., 1993).

Nas plantas, o Mo é um elemento com alta mobilidade (ZOZ et al., 2009) e os sintomas da deficiência nas plantas cultivadas em solos deficientes ou ácidos, caracteriza-se pela presença de folhas velhas retorcidas, amareladas com manchas necróticas nas margens dos folíolos. Os sintomas são semelhantes à deficiência de nitrogênio induzida pela deficiência de Mo, que causam a clorose total das folhas mais velhas ou de meia idade fisiológica, seguida de necrose, como consequência da inibição da atividade da nitrato redutase e subsequente acúmulo de nitrato (SFREDO; OLIVEIRA, 2010).

O nível crítico de Mo para sementes de soja é de $3,5 \mu\text{g sementes}^{-1}$, sendo que sementes com concentrações maiores apresentaram aumento do número de grãos e de vagens por planta, além de aumento da massa seca de plantas produzidas em solos ácidos (JACOB NETO; ROSSETO, 1998).

A resposta de produtividade de grãos em relação à aplicação via foliar de Mo está diretamente ligada à fertilidade do solo. Neto et al. (2012) obtiveram melhor rendimento em soja com a aplicação de Mo via foliar ou via tratamento de sementes comparada à testemunha. Cultivando trigo em solo com pH 5,0, Zoz et al. (2009) observaram melhor rendimento com a aplicação foliar de Mo sendo que o componente do rendimento afetado foi o número de espigas m^{-2} . Entretanto, com a aplicação de Mo em soja durante a maturação, Milani et al. (2010) encontraram acúmulo de Mo em decorrência da concentração aplicada na planta, porém, não encontraram influência do mesmo sobre a produção e qualidade de sementes sendo que as mesmas não apresentaram diferenças significativas comparadas as que não receberam Mo.

2.3 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

Na fixação biológica, a nitrogenase catalisa a redução do N_2 atmosférico a amônia (NH_3), sendo rapidamente convertida em NH_4^+ , e na interação simbiótica os microrganismos diazotróficos suprem completamente a necessidade de nitrogênio da planta hospedeira (TAIZ; ZEIGER, 2009), sendo distribuído e incorporado em diversas formas de N orgânico, como os ureídeos, aminoácidos e amidas (HUNGRIA et al., 2001).

Pela existência da simbiose, a adubação nitrogenada em caso de leguminosas, como a soja, deixam de ser necessárias, porém, outros nutrientes devem ser fornecidos, quando houver necessidade. Em função disso, diversos trabalhos têm sido desenvolvidos para verificar a influência de determinados nutrientes na fixação biológica de N no sistema leguminosa x *Rhizobium*. Barbosa et al., (2010) trabalhando com aplicação de molibdênio via foliar na cultura do feijão encontraram aumento na presença de nódulos no sistema radicular das plantas, mostrando que a aplicação de molibdênio pode melhorar a simbiose *Rhizobium*-feijoeiro, dada sua importância no metabolismo do nitrogênio.

O molibdênio é requerido em quantidades muito pequenas, porém, em plantas que formam associações simbióticas com microrganismos fixadores de N₂, é de fundamental importância, pois está relacionado à nitrogenase, que é um complexo enzimático formado por duas proteínas: a proteína Mo-Fe e a proteína Fe. Já para as demais plantas, o Mo entra na composição da nitrato redutase, outra enzima chave no metabolismo do nitrogênio (TAIZ; ZEIGER, 2009; JACOB-NETO & ROSSETO, 1998).

2.4 ASSIMILAÇÃO DO NITROGÊNIO EM PLANTAS

O metabolismo do N, nas plantas, envolve três etapas: a absorção, a assimilação e a translocação. Em plantas ou órgãos que entram no processo de senescência, outra etapa que pode ser considerada no uso de N é a reciclagem.

Na fixação biológica, a nitrogenase catalisa a redução do N₂ atmosférico a amônia (NH₃), sendo rapidamente convertida em NH₄⁺, e na interação simbiótica os microrganismos diazotróficos suprem completamente a necessidade de nitrogênio da planta hospedeira (TAIZ; ZEIGER, 2009), sendo distribuído e incorporado em diversas formas de N orgânico, como os ureídeos, aminoácidos e amidas (HUNGRIA et al., 2001). Pela existência da simbiose, a adubação nitrogenada em leguminosas, como a soja, deixa de ser necessária, porém, outros nutrientes devem ser fornecidos, quando houver necessidade. Em função disso, diversos trabalhos têm sido desenvolvidos para verificar a influência de determinados nutrientes na fixação biológica de N no sistema leguminosa x rizóbio.

No caso de plantas em que a absorção ocorre na forma de NH_3 (amônia), energia é poupada, já que não há necessidade de conversão de NO_3^- a NH_3 pelas enzimas nitrato e nitrito redutases, respectivamente.

Após absorção e redução para a forma de NH_4^+ , o nitrogênio é assimilado pela glutamina sintetase (GS) e glutamina 2-oxoglutarato amidatransferase (GOGAT), também denominada de glutamato sintase, nos plastídeos. A primeira etapa envolve a GS que incorpora o NH_4^+ , formando glutamina, por meio da ligação do NH_4^+ ao grupo carboxílico do glutamato, usando energia fornecida pelo ATP, como pode ser visto na Figura 1. A GS é amplamente encontrada em animais, microrganismos e vegetais. As plantas possuem isoformas da enzima presentes em cloroplasto (GS2) e no citosol (GS1) (FIGUEIREDO et al., 2010).

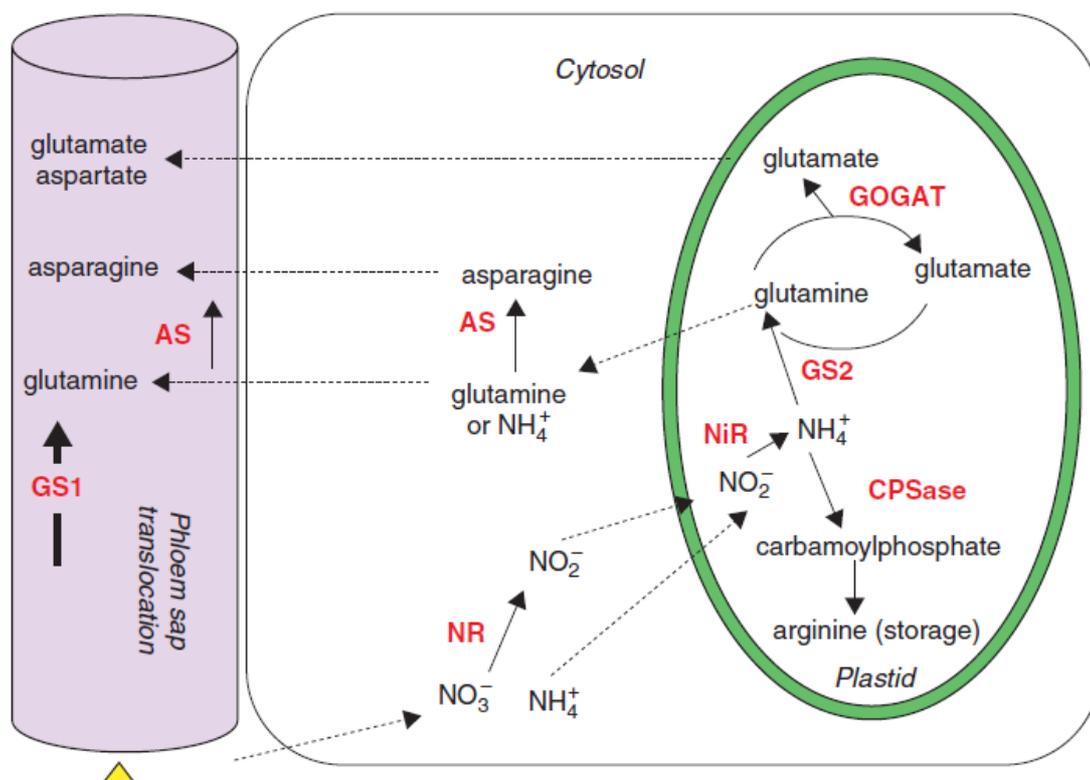


Figura 01 - Rota metabólica da GS e GOAT (Fonte MASCLAUX-DAUBRESS et al., 2010). UTFPR campus Pato Branco 2015.

A GOGAT é responsável pela transferência do grupo amida da glutamina para o 2-oxoglutarato para formar duas moléculas de glutamato (Figura 1). Esta enzima é largamente distribuída em plantas, algas e bactérias (FIGUEIREDO et al., 2010). Em plantas, a GOGAT existe em duas formas: a dependente de NADH e GOGAT- ferredoxina (Fd) (BRAUN et al., 2013).

Kubota et al. (2008) observaram que plantas de feijão originadas de sementes com alto teor de Mo apresentaram redução no número de nódulos por planta aos 45 DAE, entretanto, a atividade da nitrogenase foi maior quando comparada às sementes com baixo teor de Mo, sendo que sementes de feijão com maior teor de Mo apresentaram maior acúmulo de biomassa e maior teor de N.

Santos et al. (2012), testando aplicação de Mo em milho, observaram que devido à elevada umidade, o processo de nitrificação foi afetado e com isso não foi possível observar ativação da nitrato redutase com aplicação foliar de Mo. Em soja, Toledo et al. (2010) encontraram aumento na atividade da enzima nitrato redutase quando o micronutriente Mo foi aplicado, via foliar, na dose 60 g ha^{-1} superior à recomendada de 30 g ha^{-1} . Pessoa et al. (2001) encontraram queda da atividade da nitrogenase no tratamento que não recebeu Mo, ficando evidente o efeito de sua aplicação sobre o aumento e a manutenção da atividade da nitrogenase durante o maior período do ciclo do feijoeiro. Também observaram que a dose de Mo foliar 90 g ha^{-1} proporcionou maior atividade da nitrato redutase em feijão.

Práticas que elevem o teor de Mo nas sementes aumentam a fixação biológica de nitrogênio uma vez que melhoram a nodulação (CAMPOS et al., 1999). Vieira et al. (2010), testando diferentes concentrações em feijão, observaram que o uso de $4 \text{ kg de Mo ha}^{-1}$ permitiu acúmulo de $6,91 \text{ } \mu\text{g}$ por semente, sem afetar a qualidade fisiológica.

Devido à importância dos efeitos do molibdênio sobre a atividade enzimática, diversas pesquisas vêm sendo realizadas com o objetivo de avaliar a forma de aplicação mais eficiente e os efeitos do micronutriente em diferentes culturas.

Chagas et al. (2010), avaliando sementes de feijão enriquecidas com P e Mo, observaram que plantas oriundas de sementes com Mo apresentaram melhor

fixação biológica de nitrogênio comparadas às plantas que receberam nutrição mineral e inoculação. Silva et al. (2012) testando doses de Mo e cálcio em amendoim, encontraram reação positiva para aplicação de cálcio e Mo nas doses 50, 100 e 150 g ha⁻¹ via semente que propiciou aumento no teor de proteínas (albumina, glutelina e globulina) nos grãos de amendoim em decorrência da melhor fixação biológica de N. Para soja, Milani et al. (2008), testando doses elevadas de Mo via foliar no início da fase reprodutiva e via sementes, encontraram maior concentração de N nas folhas de plantas procedentes de sementes enriquecidas, indicando o melhor aproveitamento do N atmosférico através da FBN.

No entanto, ainda são incipientes as informações sobre os efeitos do enriquecimento com molibdênio via foliar no potencial fisiológico de sementes de soja armazenadas em condições não controladas de temperatura e umidade relativa, bem como sua influência na atividade de enzimas envolvidas no metabolismo do nitrogênio.

3 CAPITULO I – POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE SOJA ENRIQUECIDAS COM MOLIBDÊNIO NO ARMAZENAMENTO

NEGRI, Rafaela Cristina. Potencial fisiológico de sementes de soja enriquecidas com molibdênio no armazenamento. 60 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2015.

3.1 RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do molibdênio via foliar no potencial fisiológico de sementes de soja. Foram utilizadas sementes de soja da cultivar BMX Turbo, produzidas em Erechim, RS, safra 2013, provenientes de plantas tratadas com as seguintes concentrações de Mo: 0; 25; 50 e 75 g ha⁻¹ fornecidas por meio dos produtos comerciais Biomol® ou Molybdate®. Após a colheita, as sementes foram divididas em dois lotes, sendo um avaliado imediatamente e o outro permaneceu armazenado durante 6 meses em ambiente sem condições controladas de temperatura e umidade relativa no Laboratório de Análise de Sementes Seedtes em Pato Branco, PR, onde os experimentos foram conduzidos. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 2 x 2 com quatro repetições cada. Os efeitos foram avaliados pela germinação das sementes e vigor, por meio dos testes de comprimento de plântulas, massa seca de plântulas, envelhecimento acelerado e emergência em solo. Os dados foram submetidos à análise de variância e quando significativos, foram submetidos ao teste de Tukey para comparação dos produtos e do armazenamento de sementes e foi utilizado estudo de regressão para as doses ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram realizadas com o software estatístico SISVAR. O armazenamento de sementes de soja em condições não controladas afetou o vigor das sementes produzidas com Mo, independente do produto comercial utilizado. A aplicação de Mo via foliar influencia positivamente o componente fisiológico da qualidade de sementes de soja que apresentam respostas crescentes na germinação e no vigor com a aplicação de Mo acima de 25 g ha⁻¹.

3.2 ABSTRACT:

The aim of this study was to evaluate the effects of molybdenum leaf application in physiological potential of soybean seeds. Soybean seeds were used cultivar BMX Turbo, produced in Erechim, RS, 2013 crop, from plants treated with the following Mo concentrations: 0; 25; 50; 75 g ha⁻¹ supplied through two commercial products (Biomol and Molybdate). The work was conducted in Seedtes Seed Analysis Laboratory in Pato Branco, PR. The design was completely randomized in a factorial 4 x 2 x 2 with four replications each. The effects were evaluated by germination and vigor, through the growth of test seedlings, seedling dry matter, accelerated aging and emergence in soil. Data were subjected to analysis of variance and when significant, were submitted to Tukey test for comparison of products and seed storage and used regression study for doses at 5% probability. The analyzes were performed with the statistical software SISVAR. The soybean seed storage under controlled conditions did not affect seed germination produced with Mo, regardless of the commercial product used. The application Molybdenum leaf positively influences the production of soybean seeds that have increasing answers on germination and vigor with the application of Mo above 25 g ha⁻¹.

3.3 INTRODUÇÃO

O sucesso da cultura da soja depende de uma série de fatores, porém, não há dúvida que o mais importante deles é o uso de sementes com elevada qualidade, capazes de produzir plantas fortes e vigorosas com desempenho superior no campo (FRANÇA-NETO et al., 2014). Nesse sentido, o uso de sementes com boa qualidade permite acessar os avanços genéticos, com tecnologias de garantia e de localização de qualidade em diferentes regiões, garantindo maior produtividade. Portanto, o estabelecimento da cultura de soja com sementes de alta qualidade é de fundamental importância (PÁDUA et al., 2014).

Os quatro componentes básicos da qualidade das sementes (genético, físico, fisiológico e sanitário) apresentam importância equivalente, mas o potencial fisiológico tem recebido maior atenção da pesquisa, talvez porque o estabelecimento do estande constitui base sólida para a obtenção de alta produtividade e por constituir a primeira oportunidade para que o produtor avalie “in loco” o desempenho inicial das sementes adquiridas (MARCOS FILHO, 2013). Nesse sentido, a característica nutricional da planta-mãe apresenta influência relevante sobre o componente fisiológico da qualidade das sementes e sua capacidade de manutenção durante o armazenamento.

A soja apresenta elevada habilidade de suprir suas necessidades nutricionais em nitrogênio por meio da fixação biológica do N_2 , graças ao estabelecimento da associação simbiótica entre essa leguminosa e a bactéria do gênero *Bradyrhizobium*, por intermédio do complexo enzimático da nitrogenase e o molibdênio (Mo) faz parte da molécula da nitrogenase, que catalisa a redução do N_2 atmosférico a NH_3 (MARCONDES; CAIRES, 2005). As quantidades de molibdênio requeridas pelas plantas são pequenas e sua aplicação, via semente, constitui-se uma das formas mais práticas e eficazes de adubação, em diversas culturas. No feijoeiro, Leite et al. (2009) obtiveram resultados satisfatórios na qualidade fisiológica das sementes com a aplicação foliar de Mo, o qual proporcionou $1,45 \mu g$ semente⁻¹ de Mo.

No entanto, apesar da importância do molibdênio ao processo de fixação simbiótica do N_2 , existem dúvidas a respeito do fornecimento de Mo via foliar sobre o potencial fisiológico das sementes de soja. As principais fontes de

molibdênio são o molibdato de sódio e de amônio, o ácido molíbdico e o trióxido de molibdênio. Para a fixação biológica do N_2 em soja, essas quatro fontes de molibdênio têm sido tão úteis quanto os produtos comerciais (ALBINO; CAMPO, 2001).

Em razão de sua importância no processo de fixação biológica do nitrogênio e diante da exigência do Mo pela soja dentre os micronutrientes, objetivou-se avaliar os efeitos do molibdênio aplicado via foliar sobre o potencial fisiológico das sementes de soja.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de soja (cultivar BMX Turbo) utilizadas nas avaliações foram produzidas com a aplicação de Mo nas concentrações de 0; 25; 50 e 75 g ha⁻¹ fornecidas por dois produtos comerciais - Biomol® ou Molybdate® - no estágio fenológico V3, em Erechim-RS, na safra agrícola de 2013, de acordo com as recomendações do fabricante. Após a colheita que ocorreu no mês de maio de 2013, as sementes foram beneficiadas e o teor de água foi ajustado para 13%.

As sementes foram enviadas ao Laboratório de Análises de Sementes Seedtes em Pato Branco – PR, onde foram divididas em dois lotes, sendo o primeiro avaliado imediatamente após o recebimento e o segundo permaneceu armazenado em sacos de papel durante 6 meses em condições de ambiente de laboratório sem controle de temperatura e umidade relativa, porém, com registro de temperatura (Figura 02).

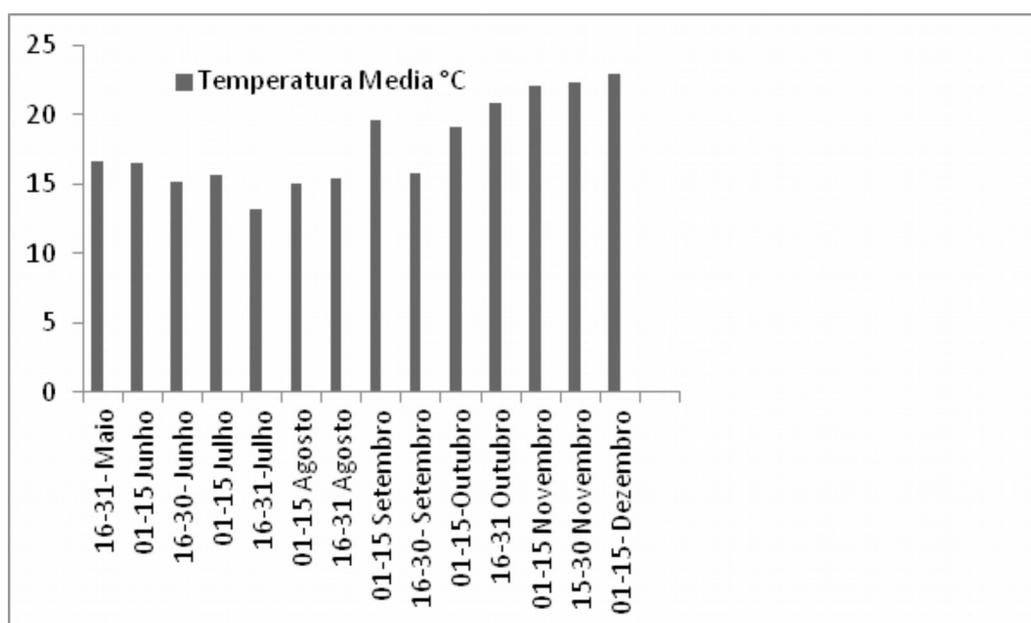


Figura 02 - Temperatura média (°C) registrada no ambiente de armazenamento das sementes de soja (cultivar BMX Turbo). UTFPR, Pato Branco. 2015.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 2 x 2 com quatro repetições cada. Os tratamentos foram constituídos por dois produtos comerciais (Biomol e Molybdate), quatro concentrações de Mo (0, 25, 50 e 75 g ha⁻¹), com as avaliações realizadas após a colheita e ao final de 6 meses de armazenamento. Os efeitos da aplicação de produtos comerciais com Mo via

foliar, doses e do armazenamento de sementes foram verificados por meio dos seguintes testes e determinações:

Teste de Germinação

O teste de germinação foi conduzido em rolo de papel Germitest®, o qual foi umedecido com água destilada em volume equivalente a 2,5 vezes o da massa do papel seco. Posteriormente, foram acondicionados em germinador do tipo Mangelsdorf regulado na temperatura de 25 °C com luz branca constante. Foram utilizadas quatro repetições, sendo que cada repetição foi composta de dois rolos contendo 50 sementes cada. A porcentagem de germinação foi avaliada aos oito dias após o início do teste, computando-se a porcentagem de plântulas normais das subamostras conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Comprimento de plântulas

Foram utilizadas quatro subamostras de 10 sementes posicionadas em rolos de papel, sobre uma linha horizontal no terço superior do papel umedecido com água destilada na quantidade de 2,5 vezes a massa do papel seco. Os rolos contendo as sementes permaneceram em germinador por cinco dias a temperatura de 25 °C. Após esse período, realizou-se a medição com auxílio de régua milimetrada do comprimento da parte aérea e das raízes das plântulas normais, respectivamente, a partir da inserção do hipocótilo até a inserção das folhas cotiledonares e da ponta da raiz primária até a inserção do hipocótilo. Os resultados foram expressos em centímetros dividindo-se a soma das medidas tomadas das subamostras pelo número de plântulas normais mensuradas.

Massa seca de plântulas

Após a avaliação dos comprimentos de parte aérea e de raiz, as partes das plântulas foram seccionadas com auxílio de bisturi e colocadas, separadamente, no interior de sacos de papel e mantidas em estufa com circulação forçada de ar regulada a 60 °C até obter peso constante. Após a secagem, a massa seca de parte aérea e raiz foi determinada em balança de precisão e os resultados foram expressos em gramas.

Envelhecimento acelerado

Para o teste de envelhecimento acelerado foram dispostas 200 sementes de soja de cada tratamento sobre uma bandeja de tela de arame galvanizado, fixado no interior de caixas plásticas do tipo “gerbox”, com 40 mL de água destilada no fundo. As amostras foram incubadas em câmaras de germinação do tipo B.O.D., à temperatura constante de 41 °C por 48 horas. Transcorrido esse período, as sementes foram colocadas para germinar seguindo os mesmos procedimentos utilizados no teste de germinação com avaliação de plântulas normais aos cinco dias após o início do teste. Foram utilizadas quatro repetições com 50 sementes cada e os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

Emergência em campo

Para o teste de emergência em campo foram semeadas 25 sementes de cada unidade experimental, distribuídas em sulcos de 1,0 m de comprimento e 2,0 cm de profundidade, mantendo as sementes equidistantes 4,0 cm umas das outras. A contagem realizou-se aos 21 dias após a semeadura, computando-se a presença de plântulas emersas, considerando-se a presença dos cotilédones acima da superfície do solo, e as folhas simples com as margens sem se tocarem. Os resultados de emergência em campo foram expressos em porcentagem.

Procedimento estatístico

Os dados foram submetidos à análise de variância e quando significativos, foram submetidos ao teste de Tukey para comparação dos produtos e do armazenamento de sementes e foi utilizado estudo de regressão para as doses ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram realizadas com o software estatístico SISVAR.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

O resumo da análise de variância das variáveis avaliadas ao fim do experimento, bem como suas médias gerais e a significância ou não dos fatores testados são apresentados na Tabela 01. Houve interação significativa entre produtos e concentrações e entre produtos e armazenamento para o comprimento de raiz, sendo verificado somente o efeito isolado das concentrações dos produtos testados para as demais características, exceto para a massa seca de parte aérea, que não foi influenciada significativamente pelos fatores ($p > 0,05$).

Verificou-se efeito significativo das concentrações de Mo para a germinação das sementes, sendo observado comportamento linear crescente com 99% de germinação na concentração de 75 g ha^{-1} (Figura 03). Os resultados de germinação encontrados foram sempre elevados, mantendo-se superior a 97% de germinação, percentual bem acima dos 80% que é o mínimo exigido para comercialização de sementes de soja de acordo com a Instrução Normativa N. 45 de 17 de setembro de 2013 (MAPA), indicando que as doses crescentes de Mo influenciaram positivamente na germinação das sementes. No entanto, esses resultados diferem dos observados por Possenti e Villela (2010) ao avaliarem sementes de soja com diferentes concentrações de molibdênio e não observaram diferença significativa na qualidade fisiológica das sementes.

Ascoli (2008), trabalhando com doses de Mo na cultura do feijão não encontraram resultados expressivos na germinação, porém a aplicação de concentrações crescentes de Mo via foliar proporcionou aumento linear da matéria seca da parte aérea de plântulas. Leite et al., (2009) testando sementes de feijão das cultivares Novo Jalo e Meia Noite enriquecidas a campo, encontrou aumento na germinação em resposta ao incremento de molibdênio da semente, sendo avaliadas sementes com conteúdos de molibdênio de até $6,767 \mu\text{g semente}^{-1}$ e não foram verificados prejuízos ao processo de germinação, mesmo na presença do Mo em conteúdos dessa magnitude.

Tabela 01 - Resumo das análises de variância da germinação (G), comprimento de raiz (CR) e de parte aérea (CPA), massa seca de raiz (MSR) e de parte aérea (MSPA), envelhecimento acelerado (EA) e emergência em solo (EMERG) de sementes de soja, cultivar BMX Turbo produzidas com diferentes produtos (P) e concentrações de molibdênio (C) e

submetidas ao armazenamento (A). UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.

F.V.	G.L.	Quadrados médios		
		G	CR	CPA
P	1	0.765625 ^{ns}	0.385952 ^{ns}	0.040502 ^{ns}
C	3	0.890625*	0.801218 ^{ns}	0.632381*
A	1	0.015625 ^{ns}	3.084414*	0.587139*
P x C	3	0.765625 ^{ns}	0.749068*	0.101797 ^{ns}
P x A	1	0.015625 ^{ns}	0.443889*	0.008327 ^{ns}
C x A	3	0.348958 ^{ns}	0.304806 ^{ns}	0.092935 ^{ns}
P x C x A	3	0.682292 ^{ns}	0.285081 ^{ns}	0.029456 ^{ns}
Resíduo	48	0.276042	0.109077	0.078678
CV (%)		0,53	2,26	5,55
Média Geral		99%	14,58 cm	5,05 cm

F.V.	G.L.	MSR	MSPA	EA	EMERG
P	1	0.000233 ^{ns}	0.00032 ^{ns}	9 ^{ns}	36 ^{ns}
C	3	0.001217*	0.002674 ^{ns}	30,25*	172.666667*
A	1	0.000264 ^{ns}	0.001397 ^{ns}	25*	25 ^{ns}
P x C	3	0.000177 ^{ns}	0.003055 ^{ns}	7 ^{ns}	88.666667 ^{ns}
P x A	1	0.000014 ^{ns}	0.002221 ^{ns}	12,25 ^{ns}	1 ^{ns}
C x A	3	0.000065 ^{ns}	0.001526 ^{ns}	1.666667 ^{ns}	27 ^{ns}
P x C x A	3	0.000165 ^{ns}	0.001304 ^{ns}	0,25 ^{ns}	3 ^{ns}
Resíduo	48	0.000164	0.001776	3.666667	40,5
CV (%)		8,07	6,48	2,01	7,07
Média Geral		0,16 g	0,65 g	95%	90%

* significativo a 5% de probabilidade ^{ns} não significativo

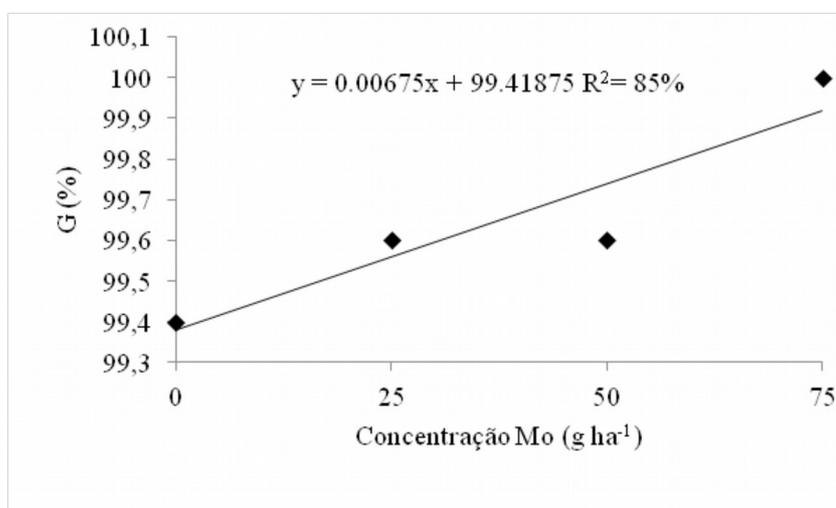


Figura 03 - Valores médios de germinação (G) de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (Mo) g ha⁻¹. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.

Observou-se efeito significativo do armazenamento para os comprimentos de raiz e de parte aérea e para o envelhecimento acelerado (Tabela 02), sendo verificada redução, independente do tratamento recebido durante a

produção, quando submetidas ao armazenamento. No entanto, vale salientar que esta redução não afetou o potencial fisiológico das sementes, sendo observado que mesmo após o armazenamento as sementes apresentaram alto valor de germinação avaliados pelo teste de envelhecimento acelerado (95%). Isso indica que, possivelmente, as boas condições do manejo de campo e durante o armazenamento permitiram que as sementes sofressem uma baixa deterioração.

Tabela 02 - Resultados médios de comprimento de raiz (CR) e de parte aérea (CPA) e envelhecimento acelerado (EA) de sementes de soja produzidas com diferentes fontes de molibdênio e submetidas ou não ao armazenamento. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.

Armazenamento (meses)	CR (cm)	CPA (cm)	EA (%)
0	14,80 A	5,15 A	96 A
6	14,36 B	4,95 B	95 B

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Houve Interação significativa entre os produtos testados e o armazenamento de sementes para o comprimento de raiz (Tabela 03), que foi superior em sementes recém-colhidas para ambos os produtos utilizados como fontes de molibdênio. Esses resultados indicam que as condições sem controle de temperatura e umidade relativa nas quais as sementes permaneceram durante o armazenamento afetaram o crescimento de plântulas. As sementes quando submetidas a armazenamento com condições de temperatura e umidade não controladas, tendem a perder o vigor e a germinação devido a peroxidação dos lipídeos o qual resulta em danos a membrana (SMANIOTTO et al., 2014).

Tabela 03 - Comprimento de raiz (cm) de sementes de soja produzidas com diferentes fontes de molibdênio e submetidas ou não ao armazenamento (meses). UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.

Armazenamento (meses)	Biomol®	Molybdate®
0	14,96 A	14,64 A
6	14,35 B	14,38 B

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Para o comprimento de raiz houve interação entre as concentrações e os produtos testados (Figura 04), sendo verificado que com o produto Biomol houve um maior comprimento de raiz (15,2 cm) com a utilização da concentração de 25 g

ha⁻¹. Para as sementes que receberam tratamento com Molybdate observou-se o menor resultado de comprimento (14,4 cm) com a aplicação de 50 g ha⁻¹ (Figura 04). Esses resultados indicam que a fonte comercial para o fornecimento de Mo e a concentração utilizada influenciaram o potencial fisiológico das sementes, como verificado pelo crescimento de raízes.

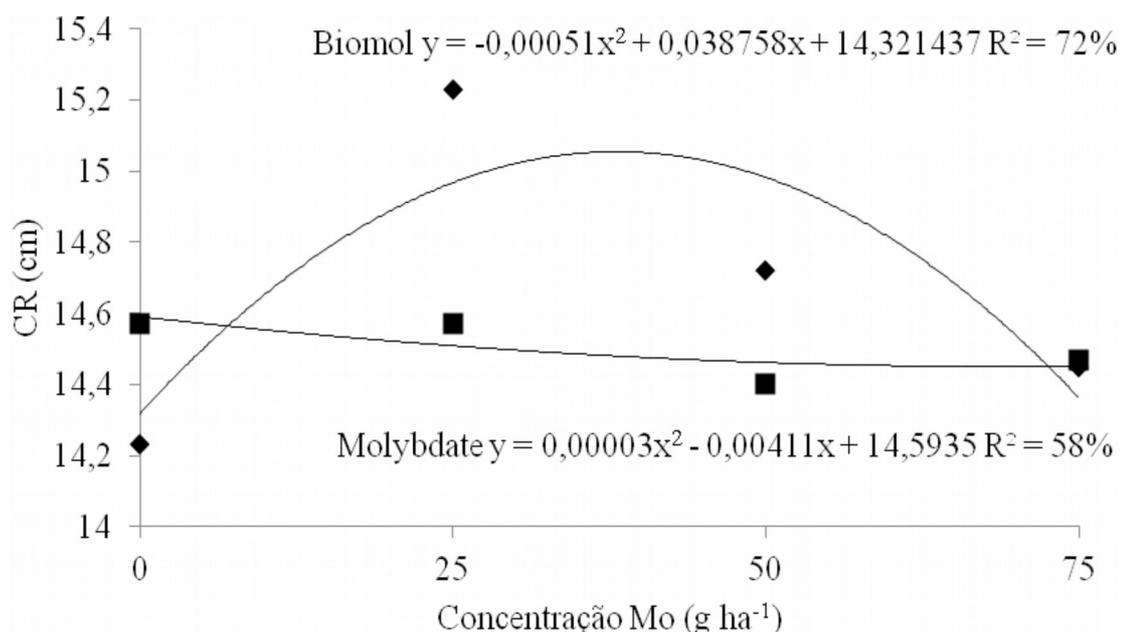


Figura 04 - Valores médios para comprimento de raiz (CR) de plântulas de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (g ha⁻¹) oriundas de dois produtos. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.

Os efeitos das concentrações de Mo também foram observados no comprimento de parte aérea, onde verificou-se efeito linear crescente, sendo que as sementes que receberam a concentração de 75 g ha⁻¹ apresentaram 5,2 cm e as sementes que não receberam o tratamento apresentaram 4,8 cm de parte aérea (Figura 05). Os resultados de comprimento de plântulas permitem inferir que plantas que receberam tratamento com Mo produziram sementes com maior vigor devido uma melhor translocação de reservas para as sementes em consequência da melhor condição nutricional das plantas. A disponibilidade de nutrientes influi na formação do embrião e dos órgãos de reserva, assim como na composição química da semente e, dessa forma, poderá, conseqüentemente, influenciar o seu vigor e a sua qualidade (SÁ, 1994).

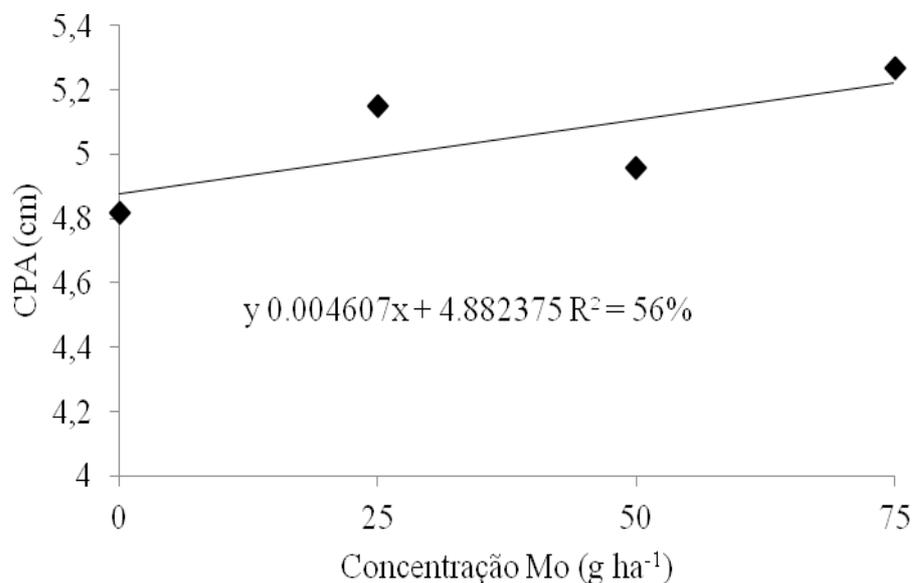


Figura 05 - Valores médios para comprimento de parte aérea (CPA) de plântulas de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (Mo) g ha⁻¹. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.

Para a massa seca de parte aérea não houve efeito significativo dos fatores avaliados, sendo observado resultado médio de 0,65 e de 0,64 g pl⁻¹ para as sementes que receberam o tratamento de Mo com Biomol e Molybdate, respectivamente, e que não foram armazenadas e observou-se resultado médio de 0,64 g pl⁻¹ para ambas as sementes que receberam o tratamento com Biomol e Molybdate e que foram armazenadas (Figura 06), indicando que a translocação de reservas para a parte aérea das plantas de soja não foi influenciada pelo micronutriente.

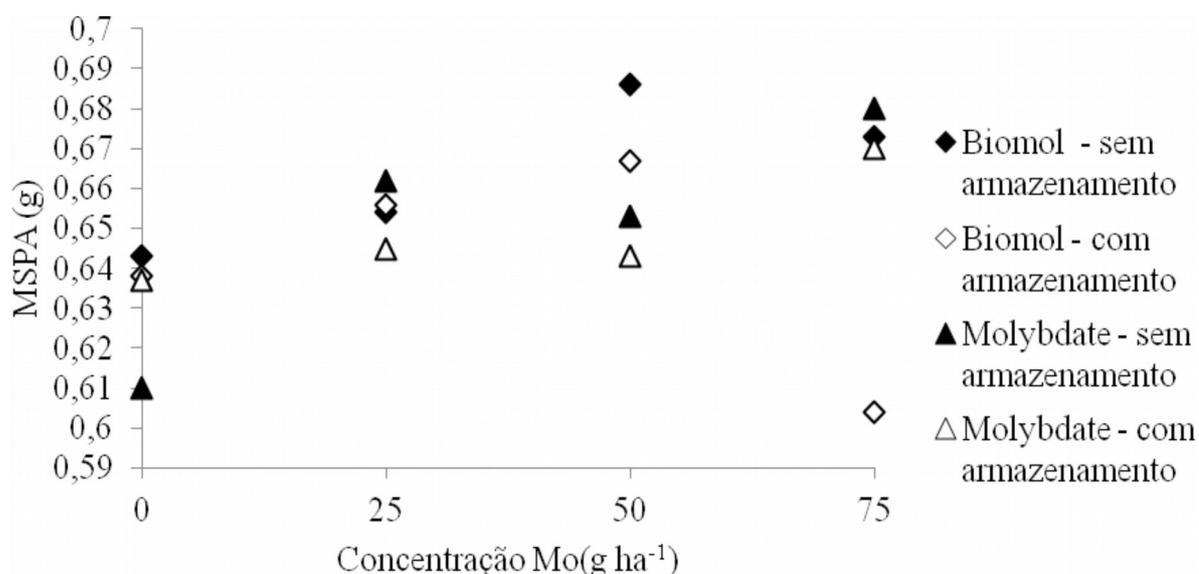


Figura 06 - Valores médios de massa seca de parte aérea (MSPA) de plântulas de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (Mo) g ha⁻¹. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.

Para a massa seca de raiz (Figura 07) foi verificado comportamento linear crescente conforme o incremento das concentrações, sendo observado que as sementes que não receberam tratamento com Mo via foliar apresentaram 0,149 g pl⁻¹, e as que receberam 75 g ha⁻¹ apresentaram 0,168 g pl⁻¹. Os resultados de massa seca de raiz foram influenciados pelo maior acúmulo e disponibilidade de reservas nas sementes de plantas que recebem Mo, e possivelmente, plantas oriundas de sementes que recebem Mo apresentarão um melhor desenvolvimento inicial apresentando futuramente produtividade mais elevada comparadas às plantas que não receberam Mo.

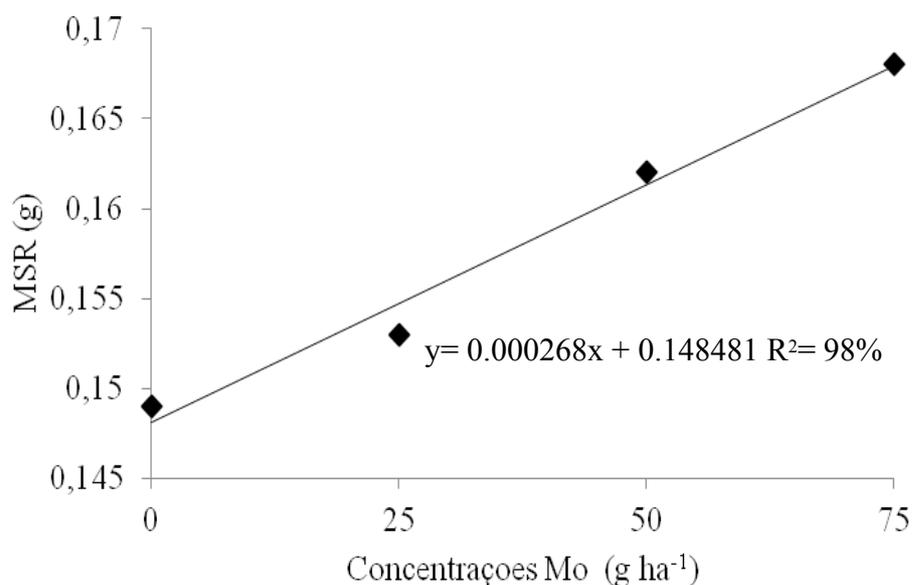


Figura 07 - Valores médios de massa seca de raiz (MSR) de plântulas de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (Mo) g ha⁻¹. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.

O efeito significativo das concentrações de Mo no potencial fisiológico das sementes também foi observado pelo envelhecimento acelerado que evidenciou o elevado nível de vigor das sementes de soja (acima de 90%) em todas as concentrações utilizadas e independente do produto utilizado (Figura 08). No entanto, os efeitos do Mo na qualidade fisiológica de sementes podem ser diferentes de acordo com a espécie. Em sementes de feijão, Leite et al. (2009) verificaram influências negativas para sementes que possuíam conteúdos superiores a 3,40 µg de Mo semente⁻¹. Neste mesmo trabalho, os autores observaram elevada condutividade elétrica em sementes com elevado conteúdo de Mo, indicando a ocorrência de mudanças degradativas nas membranas celulares que se tornam “permeáveis”, permitindo o fluxo de solutos para fora da célula, o que provoca decréscimos das reservas durante a embebição e afetou o vigor das sementes.

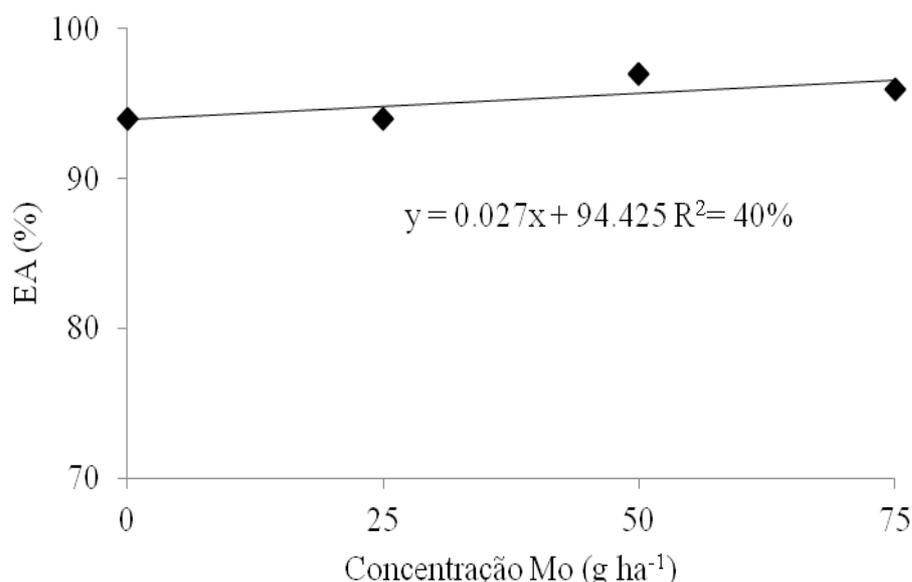


Figura 08 - Valores médios de Envelhecimento acelerado de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (Mo) g ha⁻¹. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.

O efeito significativo das concentrações de Mo também foram observados para a emergência em campo que apresentou resultado mínimo de 87% na concentração de 50 g ha⁻¹ (Figura 09), indicando o potencial da aplicação de Mo para produzir sementes de soja com elevado desempenho em campo.

Embora os efeitos negativos do armazenamento de sementes em condições não controladas tenham sido observados na qualidade de sementes produzidas com as duas fontes de Mo utilizadas (Tabela 2), de acordo com os resultados de germinação e vigor, a aplicação de Mo via foliar é promissora para produção de sementes de soja, sendo verificado, de maneira geral, que o efeito das concentrações apresentou maior influência que os produtos comerciais utilizados. Os efeitos positivos da aplicação de Mo sobre o potencial fisiológico das sementes de soja foram evidenciados pelos testes de germinação, testes baseados no desempenho de plântulas e envelhecimento acelerado, que indicaram respostas crescentes da qualidade de sementes conforme o aumento das doses de Mo aplicadas durante a fase de produção.

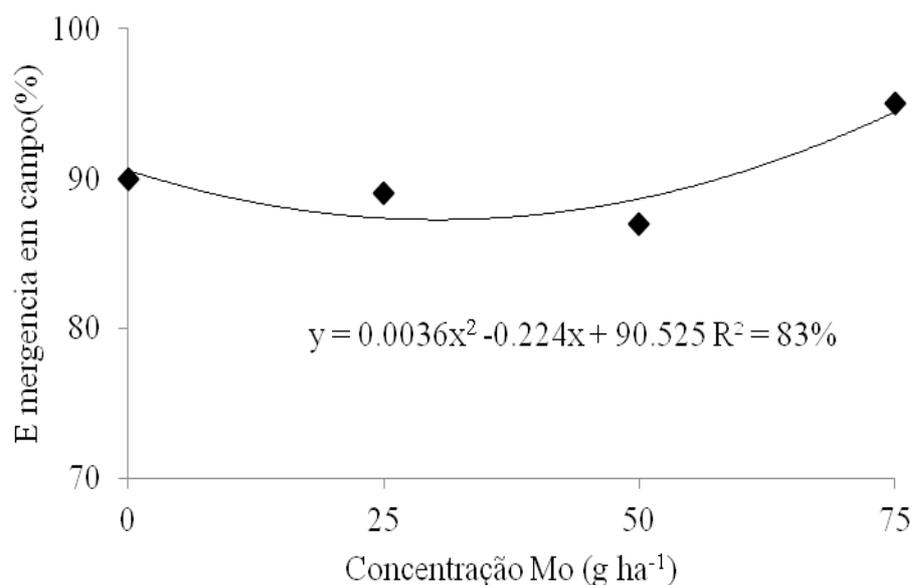


Figura 09 - Valores médios de Emergência em campo de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (Mo) g ha⁻¹. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.

3.6 CONCLUSÕES

O armazenamento de sementes de soja em condições não controladas afetou o vigor das sementes produzidas com Mo, independente do produto comercial utilizado.

Nas condições deste experimento a aplicação de Mo via foliar influencia positivamente a produção de sementes de soja que apresentam respostas crescentes na germinação e no vigor com a aplicação de Mo acima de 25 g ha⁻¹.

4 CAPÍTULO II – EFEITO DO ENRIQUECIMENTO DE MOLIBDÊNIO EM SEMENTES DE SOJA NA ATIVIDADE DE ENZIMAS DO METABOLISMO DO NITROGÊNIO

NEGRI, Rafaele Cristina. Efeito do enriquecimento de molibdênio em sementes de soja na atividade de enzimas do metabolismo do nitrogênio 60 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia Área de Concentração: Produção vegetal, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2015.

4.1 RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do enriquecimento de molibdênio na atividade das enzimas envolvidas no metabolismo do nitrogênio. Foram utilizadas sementes de soja da cultivar BMX Turbo, produzidas em Erechim, RS, safra 2013, provenientes de plantas tratadas com as seguintes concentrações de Mo: 0; 25; 50 e 75 g ha⁻¹ fornecidas por meio de dois produtos comerciais (Biomol e Molybdate). O experimento foi conduzido em vasos na UTFPR-PB, em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 X 2 com quatro repetições. As avaliações foram realizadas quando as plantas atingiram o estágio fenológico R1 quanto à nodulação, massa seca de raiz e parte aérea das plantas e determinação das enzimas glutamina sintetase e glutamato sintase e o teor de proteínas solúveis totais. Os dados foram submetidos à análise de variância e quando significativos, ao teste de Tukey para comparação dos produtos com estudo de regressão para as concentrações ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram realizadas com o software estatístico SISVAR. O enriquecimento de Mo via foliar não afetou a nodulação das plantas da geração seguinte, porém a utilização de Mo acima de 25 g ha⁻¹ proporcionou aumento na atividade das enzimas envolvidas no metabolismo do nitrogênio bem como no teor de proteínas totais.

4.2 ABSTRACT:

The study objective was to evaluate Gift OS Enrichment effects Molybdenum Enzymes in the activity involved in nitrogen metabolism. Were used soybean seeds cv BMX Turbo, produced in Erechim, RS, 2013 crop, from plants treated with the following Mo concentrations: 0; 25; 50 and 75 g ha⁻¹ provided by two Commercial Products (Biomol and molybdate) .The experiment conducted was in vases on UTFPR, a completely randomized design was Used in Scheme factor repetitions Four 4 X 2 COM. As evaluations Were carried When such plants reached the phenological stage R1 Regarding nodulation, dry weight of root and aerial part of the plants and determination of enzymes glutamine synthetase and glutamate synthase OE content of soluble Total Proteins. Data Were submitted to ANOVA and significant When, Were submitted When Para Tukey test comparison of products and was used to study Regression as doses At the level of 5% probability. As analyzes Were performed with the Statistical SISVAR software. The foliar Mo enrichment NOT affect nodulation of plants Generation NEXT, however the use of Mo Above 25 g ha⁻¹ provides increased activity of enzymes involved in the metabolism of nitrogen Well As The Content of Total Proteins.

4.3 INTRODUÇÃO

Aliados à busca por elevadas produtividades, o melhoramento genético seleciona cultivares de soja mais eficientes na fixação do nitrogênio atmosférico, dispensando, assim, os gastos com uso de fertilizantes nitrogenados. O nitrogênio é um elemento chave na síntese de proteínas, cuja demanda é elevada na cultura, que acumula cerca de 100 a 200 kg de nitrogênio por hectare, sendo 67 a 75% alocados nas sementes (MANFRON et al., 2004). Esse nutriente pode ser absorvido diretamente do solo ou ser fornecido pela fixação biológica do nitrogênio (FBN), decorrente da associação simbiótica das bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, capazes de fixar nitrogênio atmosférico. A estimativa da necessidade de N é de 80 kg para uma produção de 1000 kg de grãos (HUNGRIA et al., 2001).

Os micronutrientes, além dos macros, desempenham importantes funções no metabolismo vegetal. Os compostos considerados importantes neste grupo são molibdênio (Mo), ferro (Fe), zinco (Zn), cobre (Cu), manganês (Mn) e boro (Bo). Dentre estes, o Mo está associado à assimilação de nitrogênio e tende a estar indisponível em solos com pH inferior a 5,5. Em não leguminosas, o Mo tem relação com a assimilação do NO_3^- . Na deficiência ocorre acúmulo de NO_3^- e a planta não pode convertê-lo em compostos orgânicos essenciais. Em leguminosas, desempenha duas funções: auxilia na quebra de NO_3^- que pode ser absorvido pelas plantas e está envolvido na fixação de N_2 pelos simbiossiontes (WEIR, 2004).

No processo de fixação biológica de nitrogênio o Mo tem papel fundamental por participar como cofator da enzima nitrogenase e também do complexo enzimático da nitrato redutase (TAIZ; ZEIGER, 2009). A quantidade requerida deste nutriente pela planta é pequena, porém, a sua disponibilidade no solo normalmente, é muito baixa por ser altamente afetada pelo pH do solo estando disponível em solos alcalinos. Os solos agrícolas em sua maioria encontram-se com pH próximo a 5,0, tornando o Mo indisponível.

Usualmente, o fornecimento de Mo é realizado por agricultores pelo tratamento de sementes ou via foliar em pré-florescimento, porém, estas formas de aplicação podem acarretar prejuízos à cultura. O enriquecimento via tratamento de sementes pode reduzir a sobrevivência dos *Bradyrhizobium* prejudicando assim a

nodulação e a FBN (ALBINO; CAMPO, 2001). O fornecimento via foliar na fase reprodutiva pode acarretar em perda da produtividade devido à deficiência nas fases iniciais da cultura, sendo que, neste contexto fazem necessários estudos para verificar o efeito do enriquecimento de sementes via foliar na fase de produção das mesmas, visando garantir maiores produtividades com a possibilidade de produção de sementes enriquecidas.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em casa de vegetação da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, e teve como objetivo avaliar o desenvolvimento e metabolismo de plantas de soja oriundas de sementes enriquecidas com molibdênio. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 4, com 4 repetições.

Os tratamentos foram constituídos por sementes de soja (*Glycine max*), da cultivar BMX Turbo produzidas com a aplicação de Mo nas doses de 0; 25; 50 e 75 g ha⁻¹ fornecida por dois produtos comerciais - Biomol® ou Molybdate® - no estágio fenológico V3, em Erechim-RS, na safra agrícola de 2013, de acordo com as recomendações do fabricante. Todos os tratamentos receberam, no momento da semeadura, o inoculante Atmo (*Bradyrhizobium japonicum*) na dosagem comercial de 2 mL kg⁻¹ de sementes, de acordo com as recomendações do fabricante.

Cada unidade experimental foi constituída de dois vasos (0,5 L), sendo que em cada um foram semeadas duas sementes com profundidade de semeadura de 2,0 cm. O substrato utilizado foi o Latossolo Vermelho Distroférrico no qual realizou-se análise química para correção através da aplicação de fertilizantes químicos de acordo com a necessidade (Tabela 04). Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, em temperatura média de 23 °C com regas diárias.

Tabela 04 - Análise química do solo. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2015.

Matéria orgânica	P	K ⁺	Al ⁺³	Ca ⁺²	Mg ⁺²	Saturação de base	pH
g.dm ⁻³	---mg.dm ⁻³ ---		----- cmolc.dm ⁻³ -----			%	CaCl ₂
58,97	5,34	175,95	0,16	4,10	1,86	45,11	4,7

Nodulação

Quando as plantas atingiram o estágio de desenvolvimento R1, as mesmas foram retiradas do vaso para análise da eficiência da fixação biológica de nitrogênio por meio da avaliação de nodulação. Inicialmente, foi realizada a lavagem das raízes em água corrente e, posteriormente, foi feita a contagem de nódulos presentes nas raízes, sendo expressos através do número de nódulos por planta.

Massa seca de raiz e de parte aérea

Após a lavagem das plantas para a avaliação da nodulação, foi feita a separação da parte aérea e das raízes das plantas de soja, as quais foram acondicionadas em sacos de papel e mantidas em estufa com circulação forçada de ar a 60 °C até atingirem massa constante. Posteriormente, foi determinada a massa seca de parte aérea e de raízes em balança de precisão e os resultados foram expressos em gramas por planta.

Atividade das enzimas GS e GOGAT

Foram coletados, aos 40 dias após a emergência, material vegetal (folhas) para realização das análises bioquímicas para a determinação da atividade das enzimas A sintetase da glutamina (GS) e sintase do glutamato (GOGAT). A coleta das amostras foi realizada ao acaso, retirando-se a primeira folha trifoliada completamente expandida, que foi imediatamente imersa em nitrogênio líquido a -196 °C, interrompendo completamente a atividade metabólica das plantas e, posteriormente, mantidas em ultrafreezer a -40 °C até a determinação da atividade das enzimas.

Para determinação da atividade da GS e GOGAT foi preparado um extrato cru macerando o material vegetal em graal com pistilo (previamente resfriados). O meio de extração consistiu de tampão Imidazol-HCL 50 mM (pH 7,5), EDTA 0,5 mM e mercaptoetanol 10 mM. Foram utilizados 5 mL de tampão de extração por grama do tecido. A temperatura de extração variou de 0-4 °C, utilizando-se para isto banho de gelo. O homogenato assim obtido foi centrifugado a 15000 g por 15 min a 4 °C. A fração protéica coletada foi utilizada para as avaliações de atividade enzimática.

Determinação da atividade da GS

A avaliação de atividade da enzima glutamina sintetase (EC 6.3.1.2) foi realizada pelo método proposto por Rhodes et al. (1975) e modificado por Tonin (1988).

O ensaio foi realizado com uma alíquota de 0,2 mL do extrato, acrescida de solução de ATP 6,25 mM, MgSO₄ 45 mM, hidroxilamina HCl 6,25 mM,

glutamato 93,75 mM e tampão Imidazol 50 mM pH 7,2, em volume final de 3,2 mL. O meio de reação foi incubado em banho a 30 °C. Após 20 min de incubação, alíquotas de 0,8 mL foram adicionadas a 1,2 mL de reagente contendo HCl 0,67 N, ácido tricloroacético 0,20 M e FeCl₃ 0,37 M. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 140 g por 10 min, coletado-se o sobrenadante e feita a leitura do glutamil hidroxato formado, em espectrofotômetro (Shimadzu UV 1800), no comprimento de onda de 535 nm. Os resultados foram expressos em $\mu\text{moles min}^{-1}$ de glutamil hidroxamato.

Determinação da GOGAT

A atividade da enzima GOGAT (glutamina-2 oxoglutarato-amidatransferase -EC 2.6.1.5.3.) foi avaliada pelo método proposto por Dougall (1974) e modificado por Tonin (1988).

O meio de reação consistiu de 3 mL (volume final), contendo 0,3 mL do extrato, glutamina 5 mM, 2-oxo-glutarato 5 mM, NADH 0,1 mM, tampão Tris-HCl 50 mM pH 7,5. Os tubos de ensaio foram mantidos em banho a 30 °C por 10 min. A quantificação foi feita pela medida do NADH oxidado durante a reação, em espectrofotômetro, em comprimento de onda de 340 nm, na presença dos substratos glutamina e 2-oxoglutarato. A atividade foi expressa em $\mu\text{moles min}^{-1}$ de NADH oxidado.

Quantificação de proteínas solúveis totais

As amostras de tecidos foliares utilizadas para ensaios de atividade enzimática foram analisadas para a determinação de proteínas solúveis totais, através do método descrito por Bradford (1976). Foram macerados 0,5 g de tecido em 2 mL de tampão fosfato 0,1 M, pH 7,5. Após centrifugação por 10 min a 5000 g, três alíquotas de 20 μL do sobrenadante (extrato bruto) foram retiradas e misturadas ao reativo de Bradford. Após 15 min, foram realizadas as leituras utilizando-se espectrofotômetro a 595 nm. A quantificação de proteínas foi determinada com o uso de uma curva padrão de BSA (soro albumina bovina) e expressa em mg de proteínas g^{-1} de tecido vegetal.

Procedimento estatístico

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e quando significativos ($p < 0,05$) à análise de regressão ao nível de 5% de probabilidade por meio do software estatístico SISVAR.

5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resumo das análises de variância das variáveis avaliadas ao fim do experimento II, bem como as médias gerais e a significância ou não dos fatores estão apresentados na Tabela 05.

Tabela 05 - Resumo das análises de variância de nódulos por plantas (NP), massa seca de raiz (MSR) e de parte aérea (MSPA), atividade da glutamina sintetase (GS), atividade da glutamato sintase (GOGAT) e proteínas solúveis totais (PROT). Cultivar BMX Turbo produzidas com diferentes produtos (P) e concentrações de molibdênio©. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.

F.V.	G.	NP	MSR	Quadrados médios			
				MSPA	GS	GOGAT	PROT
	L.						
P	1	0,28125 ^{ns}	0.00451	0.00038	0.15924	0.13128	2.53447
			ns	ns	ns	ns	ns
C	3	58.28125	0.01149	0.234328	0.414662	7.52668	22.0912
		ns	ns	*	*	ns	ns
P x C	3	51.78125	0.02625	0.04348	0.12848	16.03697	2.52713
		ns	ns	ns	ns	*	*
Resíduo	24	20.53125	0.05117	0.07121	0.08782	1.71881	0.25343
CV (%)		21	29	19	19	9,4	4,9
Média		20,6	0,78	1,40	1,51	13,98	10,22
Geral							

* significativo a 5% de probabilidade ^{ns} não significativo

Para variável número de nódulos por planta não foram observadas diferenças significativas entre concentrações e produtos apresentando em média 20,65 nódulos por planta. Milani et al.(2008) testando doses de Mo via foliar em dois experimentos com soja também não observaram diferenças para número de nódulos por plantas entre as doses de Mo via foliar, sendo 51,50 no ensaio 1 para o ensaio 2 encontrou menor número de nódulos 45,25 para testemunha que recebeu aplicação de Mo via tratamento de sementes o que pode ser resultante do efeito tóxico do Mo quando aplicado juntamente com o inóculo nas sementes, promovendo uma redução da população de bactérias responsáveis pela nodulação.

Para a variável massa seca de raiz não foram observadas diferenças significativas para produtos e concentrações (Tabela 05), apresentando média de

0,77 g planta⁻¹. O mesmo foi observado por Milani et al. (2008) quando trabalhando com diferentes concentrações de Mo não encontraram diferença para matéria seca de raiz.

Na figura 10 observam-se os valores médios de massa seca de parte aérea, sendo verificado que a concentração que apresentou maior massa foi a de 25 g ha⁻¹ com 1,6 g pl⁻¹ enquanto sementes que não receberam Mo apresentaram menor massa seca ficando estas com 1,2 g pl⁻¹. Sendo o Mo um micronutriente envolvido no metabolismo do nitrogênio, a presença deste composto pode ter interferido positivamente, levando à maior síntese de enzimas, como a nitrogenase (pela disponibilidade) e conseqüentemente, à maior assimilação de nitrogênio, o que reflete em maior crescimento. Apesar de valores muito pequenos, deve-se lembrar que o Mo é requerido em quantidades ínfimas e que a sua disponibilidade não significará aumentos significativos, principalmente se forem considerados que há diversos fatores envolvidos no balanço nutricional.

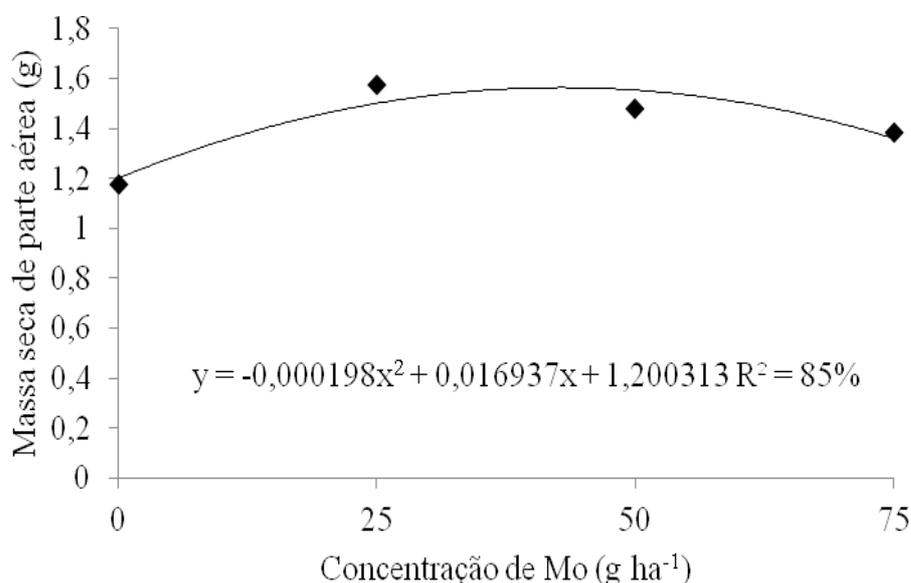


Figura 10 - Valores médios para massa seca de parte aérea de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (Mo) g ha⁻¹. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.

Para atividade da glutamina sintetase (Figura 11), observou-se elevação com a aplicação de Mo. A concentração de 25 g ha⁻¹ foi suficiente para

aumentar a atividade enzimática de 1,2 para 1,5 $\mu\text{mol GGH g}^{-1}$, porém, em concentrações maiores, como 75 g ha^{-1} a atividade foi mais expressiva (1,8 $\mu\text{mol GGH g}^{-1}$) (Figura 11). Estes aumentos, indiretamente, sugerem que a aplicação de Mo incrementou a atividade da nitrogenase, já que esta enzima possui Mo como componente e segundo Marschner (1995) a aplicação deste micronutriente reflete na maior atividade de fixação de N_2 em leguminosas e/ou outras plantas que fazem associações simbióticas com microrganismos diazotróficos. Harper; Paulsen (1969), trabalhando com trigo (*Triticum aestivum*), verificaram a diminuição na atividade da nitrato redutase em plântulas deficientes em molibdênio, porém, a GS não foi afetada. Diferentemente, Yu et al. (2010), também trabalhando com trigo, verificaram diminuição da atividade da GS quando adubaram com Mo. A GS, nas folhas, também assimila NH_4^+ gerado na fotorrespiração, proveniente da quebra de proteínas, na biossíntese de lignina, além da redução do nitrato.

O aumento na atividade da nitrogenase reflete em concentrações maiores de NH_4^+ disponíveis às plantas. Consequentemente, as enzimas envolvidas no metabolismo do nitrogênio, como a GS tendem a ter sua atividade elevada, já que em conjunto com a GOGAT são enzimas chave na assimilação de N.

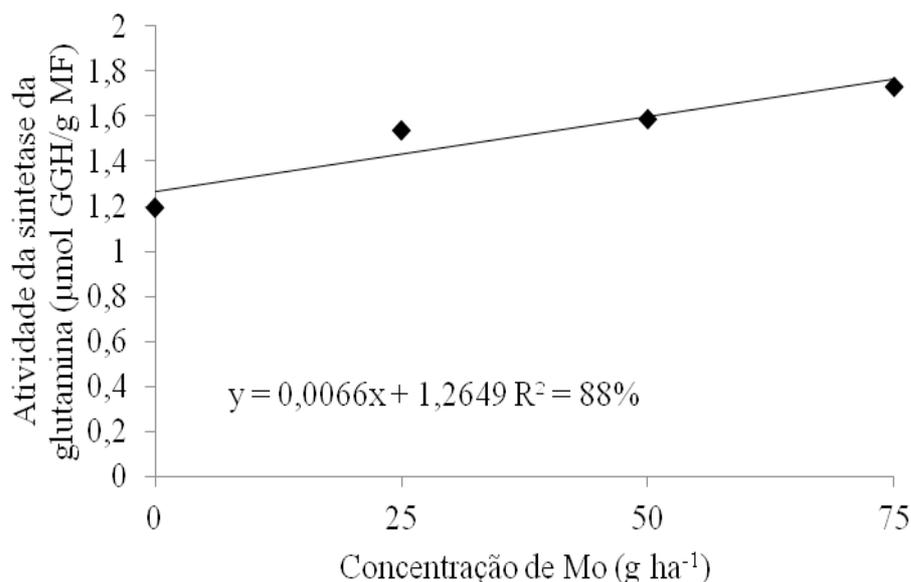


Figura 11 - Atividade da síntese da glutamina ($\mu\text{mol de GGH/g MF}$) em plantas de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (Mo) g ha^{-1} . UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.

Para atividade da glutamato sintase houve interação entre as diferentes fontes de Mo e concentrações, conforme figura 12. Nota-se que para o Biomol a concentração de 25 g ha⁻¹ foi a que expressou maior atividade (17 μ mol de NADH reduzido g MF⁻¹); já para Molybdate observou-se que houve aumento na atividade (16 μ mol de NADH reduzido g MF⁻¹) somente na concentração de 50 g ha⁻¹. Para as demais concentrações de ambos os produtos comerciais testados não houve diferença na atividade quando comparadas à testemunha (15 μ mol de NADH reduzido g MF⁻¹).

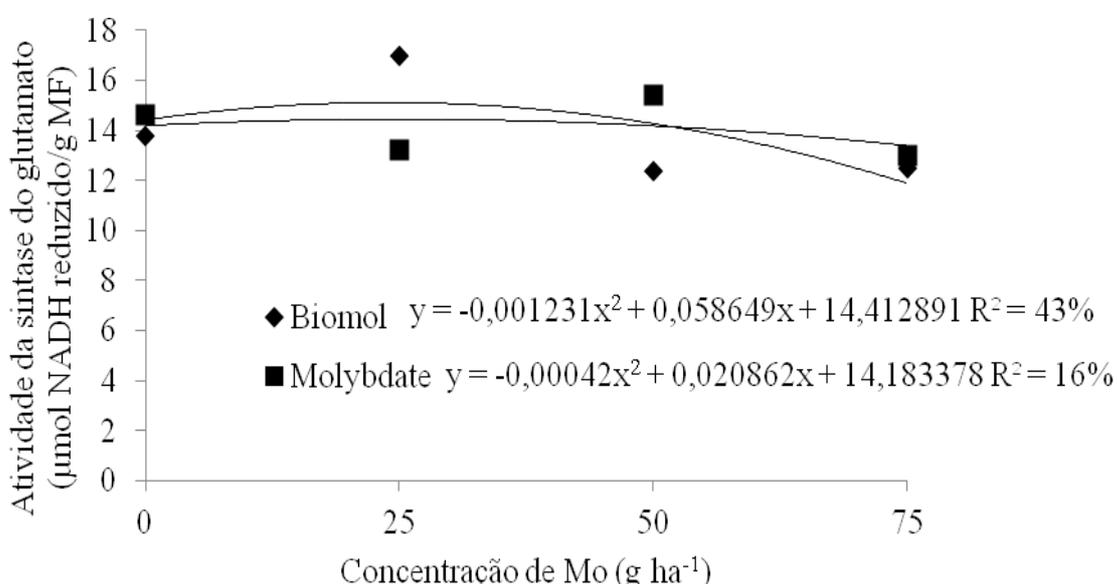


Figura 12 - Atividade da síntese do glutamato (μ mol de NADH reduzido/g MF) em plantas de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (Mo) g ha⁻¹. UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.

Relacionadas ao metabolismo do N, as enzimas xantina oxidase e xantina desidrogenase, são responsáveis pelo catabolismo das bases purínicas, resultando na formação de ureídeos (MARSCHNER, 2002), sendo os principais a alantoína, o ácido alantóico, importantes moléculas de transporte de N em leguminosas de clima tropical, como soja, feijão e amendoim (TAIZ; ZEIGER, 2009). Alantoína e ácido alantóico são transportados das células das raízes (as não infectadas pelas bactérias fixadoras) através do xilema para outras partes das plantas. Nas folhas, são degradadas liberando amônia, a qual será assimilada pela GS e GOGAT (CRAWFORD et al., 2000). Portanto, a disponibilização de N na parte

aérea das plantas é resultado da formação destas moléculas nos nódulos, que resultam diretamente da fixação de N_2 pela nitrogenase. Assim, aumentos na atividade da GS e GOGAT podem indicar aumento na atividade de nitrogenase, indiretamente.

A disponibilidade de NH_4^+ , através da nitrogenase presente nas bactérias fixadoras é que determinará a atividade de GS/GOGAT, pois estas enzimas são responsáveis pelo que parece ser a rota primária de assimilação de N nas plantas (TEMPLE et al., 1998). Verificou-se que tanto para GS quanto para GOGAT, a melhor concentração de Mo foi de 25 g ha^{-1} , o que pode indicar, indiretamente, como a melhor também para a nitrogenase.

Ao analisar a síntese proteica, ambas as fontes de Mo e suas diferentes concentrações resultaram em aumento na síntese destes compostos. Como era esperado, a concentração de 25 g ha^{-1} de Mo foi a que mais efeito teve sobre as proteínas (Figura 13), confirmando aumento destas e conseqüentemente, maior quantidade de enzimas e suas atividades.

Por ser constituinte de proteínas, é esperado que o aumento da absorção e assimilação do N resulte em maior concentração destas biomoléculas. Na deficiência de micronutrientes, como observado por Harper; Paulsen (1969) em plantas de trigo, principalmente com a falta de molibdênio, a síntese proteica foi menor, o que os autores relacionaram à menor atividade da nitrato redutase e, conseqüentemente, na síntese de demais compostos nitrogenados. Já Nicholas et al. (1954) verificaram que decréscimo na atividade da glutamato desidrogenase (GDH) provocado pela deficiência de Mo poderia indicar sua função indireta na síntese de proteínas.

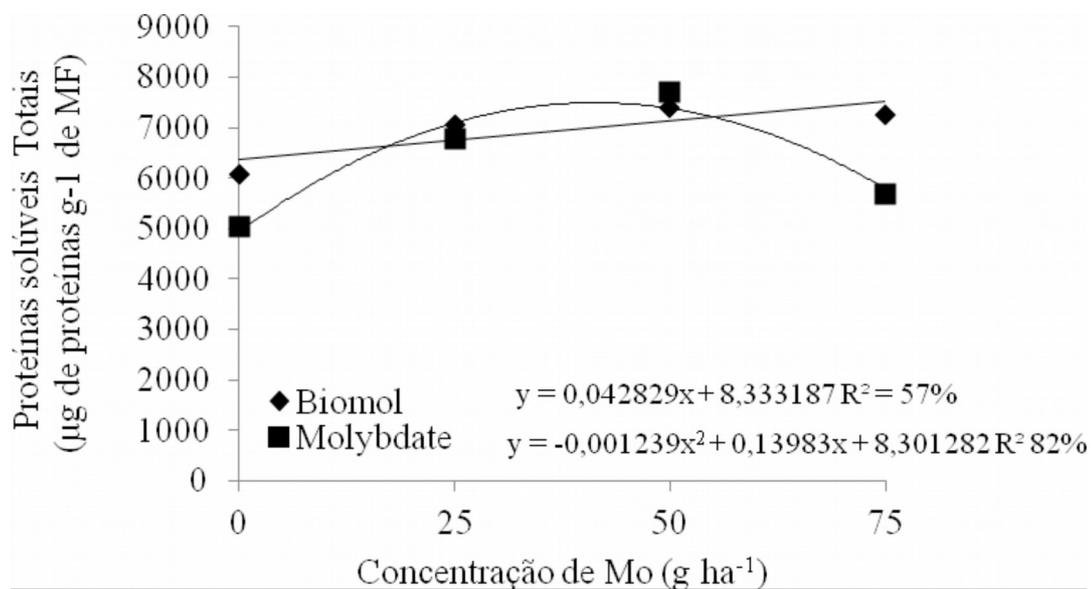


Figura 13 - Teor de proteínas (μg de proteínas g^{-1} de MF) em plantas de soja enriquecidas com diferentes concentrações de Molibdênio (Mo) g ha^{-1} . UTFPR, Campus Pato Branco, 2015.

5.6 CONCLUSÕES

O enriquecimento de Mo, via foliar, não afetou a nodulação das plantas da geração seguinte, porém a utilização de Mo acima de 25 g ha^{-1} proporciona aumento na atividade das enzimas envolvidas no metabolismo do nitrogênio bem como no teor de proteínas totais.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os testes de vigor e germinação realizados permitem detectar a influência positiva da aplicação de molibdênio via foliar garantindo alta qualidade nas sementes oriundas de plantas enriquecidas nas condições em que foi testada.

O fornecimento via foliar de molibdênio para plantas de soja garante translocação para sementes deste elemento, evidenciado através da resposta positivas na ativação das enzimas envolvidas no metabolismo do nitrogênio.

Plantas oriundas de sementes enriquecidas apresentarão um melhor desenvolvimento e uma maior assimilação de nitrogênio consequentemente garantirão uma maior produtividade de grãos.

REFERÊNCIAS

- ALBINO, U.B; CAMPO, R.J. Efeito de fontes e doses de molibdênio na sobrevivência do *Bradyrhizobium* e na fixação biológica de nitrogênio em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 3, p. 527-534, 2001.
- ASCOLI, A. A; SORATTO, R. P; MARUYAMA, W. I. Aplicação foliar de molibdênio, produtividade e qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro irrigado. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 2, p. 377-384, 2008.
- BARBOSA. G. F., ARF, O. , NASCIMENTO, M.S.; BUZETTI, S.; FREDDI, O.S, Nitrogênio em cobertura e molibdênio foliar no feijoeiro de inverno oeiro de inverno . **Acta Scientiarum: Agronomy**, v. 32, n. 1, p. 117-123, 2010
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.
- BRAUN, H. COELHO, F.S.; SILVA, M.C.C.; FONTES, P.C.R.; CECON, P.C.; BUSATO,C. Absorção, metabolismo e diagnóstico do estado de nitrogênio em plantas de batata. **Revista de Ciências Agrária**, v. 56, n. 3, p. 185-195, 2013.
- 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, 2009. 395p.
- CONAB; Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. – v. 1, n. 1 (2013) – Brasília: Conab, 2013. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_08_07_08_59_54_boletim_graos_agosto_2014.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2015.
- CAMPO, R.J.; ALBINO, U.B.; HUNGRIA, M. Métodos de aplicação de micronutrientes na nodulação e na fixação biológica do N₂ em soja. Londrina: **EMBRAPA-CNPSo**, 1999. 7p. (EMBRAPA-CNPSo. Pesquisa em Andamento, 19).
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**.4 ed. : Funep, p. 588, 2000.
- CHAGAS, E.; ARAUJO, A.; ALVES, B. J. R.; TEIXEIRA, M. G. Seeds enriched with phosphorus and molybdenum improve the contribution of biological nitrogen fixation to common bean as estimated by ¹⁵n isotope dilution. **Revista Brasileira Ciência Solo**., v. 34, n. 4, p. 1093-1101, 2010.
- CRAWFORD, N. M; KAHN, M. L.; LEUSTEK, T.; LONG, S. R. Nitrogen and sulfur. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (eds.). **Biochemistry and**

molecular biology of plants. Rockville: American Society of Plant Physiologists, p. 786-849, 2000.

DOUGALL, D. K.. Evidence for the presence of glutamate synthase in extracts of carrot cell cultures. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 58, p. 639-49, 1974.

FIGUEIREDO, M. V.B.; BURITY, H. A.; OLIVEIRA, J. P.; SANTOS, C. E. R. S.; STANFORD, N. P. Biotecnologia aplicada à agricultura: texto de apoio e protocolos experimentais. 1.ed. 761p. 2010.

FRANÇA-NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A.; LORINI, I.; HENNING, F.A. A relação de alto vigor e a produtividade. **A Granja**, n.789, ano 70, p.34-37, 2014.

HARPER, J.E. PAULSEN, G. Nitrogen Assimilation and Protein Synthesis in Wheat Seedlings as Affected by Mineral Nutrition. II. Micronutrients' **Plant Physiol.** v. 44, p. 636-640, 1969.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. Londrina: Embrapa Soja, (**Embrapa Soja. Circular Técnica, 35; Embrapa Cerrados. Circular Técnica, 13**), 48p., 2001.

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

JAWORSKI, E. K. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 43, p. 1274-1279, 1971.

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

LEITE, U. T.; ARAÚJO, G. A. A.; MIRANDA, G. V.; VIEIRA, R. F.; PIRES, A. A. Influência do conteúdo de molibdênio na qualidade fisiológica da semente de feijão: cultivares Novo Jalo e Meia Noite. **Revista Ceres**, v. 56, n. 2, p. 225-231, 2009.

LUDWIG, M. P.; LUCCA, F. O. A.; BAUDET, L.; DUTRA, L. M.C.; AVELAR, S. A. G.; CRIZEL, R. L. Qualidade de sementes de soja armazenadas após recobrimento com aminoácido, polímero, fungicida e inseticida. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 3, p. 395-406, 2011.

MANFRON, P. A.; SHAMA, M. S.; OHSE, S.; SANTOS, O. S.; MEDEIROS, S. L. P.; NETO, D. D. Fontes de molibdênio aplicadas em soja via semente. **INSULA**, n. 33, p. 68-88, 2004.

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

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

MARCOS FILHO, J. Importância do potencial fisiológico da semente de soja. **Informativo Abrates**, v. 23, n. 1, 2013.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. 2nd edition. London: **Academic Press**, p. 313-404, 1995.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic, p. 889, 2002.

MASCLAUX-DAUBRESSE, C.; DANIEL-VEDELE, F.; DECHORGNAT, J.; CHARDON, F.; GAUFICHON, L.; SUZUKI, A. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. **Annals of Botany**, v. 105, p. 1141-1157, 2010.

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**, v. 30, p. 019-027, 2008.

MILANI, Gustavo Lima et al. Aplicação foliar de molibdênio durante a maturação de sementes de soja. **Ciênc. agrotec.** v. 34, n. 4, p. 810-816, 2010.

NETO, D.D.; DARIO, G.J.A.; MARTIN, T.N.; SILVA, M.R.; PAVINATO, P.S.; HABITZREITER, T.Z.; Adubação mineral com cobalto e molibdênio na cultura da soja. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, suplemento 1, p. 2741-2752, 2012.

NICHOLAS, D. J. D.; NASON, A.; Mc-ELROY, W. D. Molybdenum and nitrate reductase: effect of molybdenum deficiency on the *Neurospora* enzyme. **Journal of Biological Chemistry**, v. 207, p. 341-351, 1954.

PADUA, G.P.; FRANÇA-NETO, J.B, ROSSI, R.F.; CANDIDOS, H. G.. Agroclimatic zoning of the state of Minas Gerais for the production of high quality soybean seeds. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 4, p. 413-418, 2014.

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. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 24, p. 217-224, 2001.

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.

RHODES, D.; RENDON, G. A.; STEWART, G. R. The control of glutamine synthetase level in *Lemna minor* L. **Planta**, v. 125, p. 201-11, 1975.

SÁ, M.E. **Importância da adubação na qualidade de sementes**. São Paulo: Ícone, p. 65. 1994.

SANTOS, M.M.; FIDELIS, R.R.; FINGER, F.L.; MIRANDA, G.V.; SILVA, I.R.; GALVÃO, J.C.C. Atividade enzimática na cultura do milho (*Zea mays* L.) em função do molibdênio e de épocas de adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.11, p. 145-155, 2012.

SCHUAB, S.R.P.; BRACCINI, A.L.; FRANÇA NETO, J.B.; SCAPIM, C.A.; MESCHÉDE, D.K. Potencial fisiológico de sementes de soja e sua relação com emergência das plântulas a campo. **Acta Sci. Agron**. v. 28, n. 4, p. 553-561, 2006.

SFREDO, G.J.; OLIVEIRA, M.C.N. Soja: Molibdênio e cobalto. Londrina: **Embrapa Soja**, 2010. – (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 2176-2937; 322).

SILVA, M.P.; SÁ, M.E.; ABRANTES, F.L.; SOUZA, L.C.D. Influência do molibdênio e do cálcio aplicados via semente nas frações protéicas de amendoim cv. iac 886. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 6, p. 2099-2108, 2012.

SMANIOTTO, T. A. S.; RESENDE, O. K.; MARÇAL, K.A.F.; OLIVEIRA, D.E.C.; SIMONS, G.A. Qualidade fisiológica das sementes de soja armazenadas em diferentes condições. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v.18, n. 4, p. 446-453, 2014.

STULEN, I., LANTING, L., LAMBERS, H., POSTHUMUS, F., VAN DE DIJK, S. J. AND HOFSTRA, R.. Nitrogen metabolism of *Plantago lanceolata* as dependent on the supply of mineral nutrients. **Physiol, Plant**. v. 51, p. 93-98, 1981.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, p.819, 2009.

TANAKA, R. T.; MASCARENHAS, H. A. A.; BULISANI, E. A.; CAMPIELI, C.; DIAS, O. S. Resposta da soja ao molibdênio em solo arenoso de cerrado de baixa fertilidade. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, v. 28, n. 2, p. 25, 1993.

TEIXEIRA, I. R.; BORÉM, A.; ARAÚJO, G. A. A.; ANDRADE, M. J. B. Teores de nutrientes e qualidade fisiológica de sementes de feijão em resposta à adubação foliar com manganês e zinco. **Bragantia**, v. 64, n. 1, p. 83-88, 2005.

TEMPLE, S. J.; VANCE, C. P.; GANTT, J. S. Glutamate synthase and nitrogen assimilation. **Trend in Plant Science**, v. 3, n. 2, p. 51-56, 1998.

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

TONIN, G. S. **Influência da fonte de nitrogênio na atividade de enzimas envolvidas no processo de assimilação de amidas e ureídeos em cotilédones imaturos de soja mantidos em cultura**. 1988. 149 p. Tese (Doutorado em Biologia) – UNICAMP, Instituto de Biologia, Campinas, 1988.

VANZOLINI, S.; ARAKI, C. A. S.; SILVA, A. C. T. M.; NAKAGAWA, J. Teste de comprimento de plântulas na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, p. 90-96, 2007.

VIEIRA, R. F.; SALGADO, L. T.; PIRES, A. S.; ROCHA, G. S. Conteúdo de molibdênio das sementes de feijoeiro em resposta a doses do micronutriente pulverizado sobre as plantas. **Ciência Rural**, v. 40, p. 666-669, 2010.

WEIR, R. G. Molybdenum deficiency in plants. **Agfact AC.4**, second edition 1984, former Special Chemist Division of Plant Industries Revised August 2004 p. 1-4. Disponível em: <http://www.dpi.nsw.gov.au/__data/assets/pdf_file/0007/166399/molybdenum.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2015.

YU, M.; HU, C.; SUN, X.; WANG, Y.; Influences of Mo on Nitrate Reductase, Glutamine Synthetase and Nitrogen Accumulation and Utilization in Mo-Efficient and Mo-Inefficient Winter Wheat Cultivars. **Agricultural Sciences in China**, p. 355-361. 2010.

ZOZ, T.; SEIDEL, E.P.; FEY,R.; COSTA, L.; STEINER, F. Resposta da cultura do trigo a aplicação foliar de molibdênio. **Anais do IV Seminário Internacional da Cadeia do Trigo** 18, 19 e 20 de maio de 2009. FAG, Cascavel – Paraná – Brasil.