



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Ilha Solteira

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**“Efeito do B, Mo e Zn no conteúdo de proteínas,
carboidratos e aminoácidos livres em grãos e
sementes de ervilha (*Pisum sativum* L.)”**

DÉBORA CRISTIANE NOGUEIRA

A decorative graphic in the bottom right corner of the page. It consists of several overlapping, semi-transparent blue shapes with a white polka-dot pattern, arranged in a way that suggests a stylized sun or a cluster of leaves. The shapes are separated by white lines, creating a geometric, crystalline appearance.

Ilha Solteira – SP
Janeiro/2008



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Ilha Solteira

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

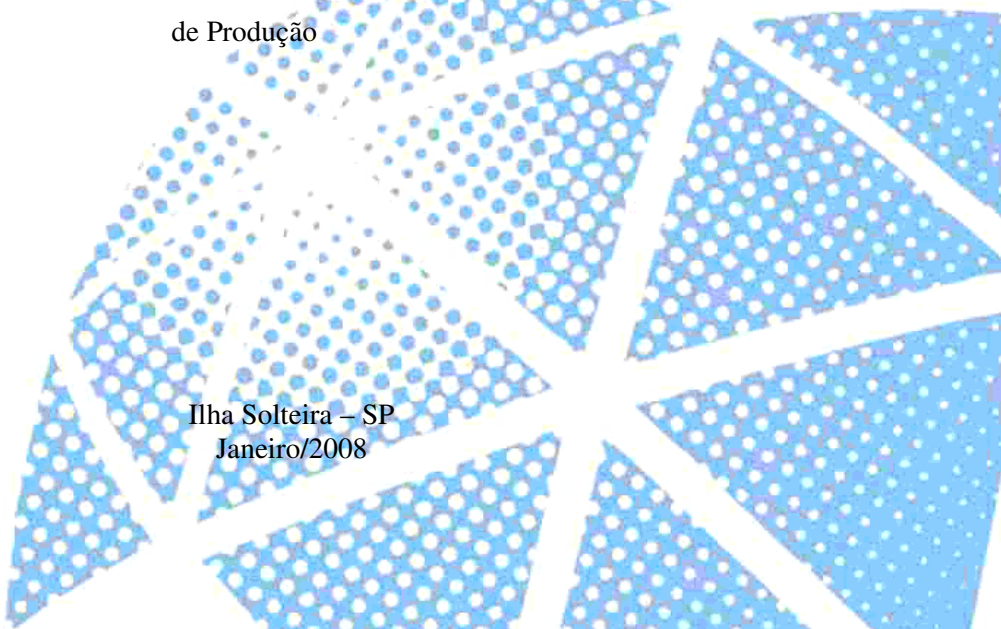
“Efeito do B, Mo e Zn no conteúdo de proteínas, carboidratos e aminoácidos livres em grãos e sementes de ervilha (*Pisum sativum* L.)”

DÉBORA CRISTIANE NOGUEIRA

Orientador: Prof^a. Dr^a. Kuniko Iwamoto Haga

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia - UNESP – Campus de Ilha Solteira, para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Especialidade: Sistemas de Produção

Ilha Solteira – SP
Janeiro/2008



FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da UNESP - Ilha Solteira.

N778e Nogueira, Débora Cristiane
Efeito do B, Mo e Zn no conteúdo de proteínas, carboidratos e aminoácidos livres em grãos e sementes de ervilha (*Pisum sativum* L.) / Débora Cristiane Nogueira.
-- Ilha Solteira : [s.n.], 2008
54 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Especialidade: Sistemas de Produção, 2008

Orientador: Kuniko Iwamoto Haga
Bibliografia: p. 46-54

1. Ervilha - Cultivo. 2. Micronutrientes. 3. Sementes - Qualidade fisiológica.
4. Grãos e sementes – Análise química.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Ilha Solteira

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Efeito do B, Mo e Zn no conteúdo de proteínas, carboidratos e aminoácidos livres em grãos e sementes de ervilha (*Pisum sativum* L.)

AUTORA: **DÉBORA CRISTIANE NOGUEIRA**

ORIENTADORA: Prof^a Dr^a **KUNIKO IWAMOTO HAGA**

DATA DAREALIZAÇÃO: 07 DE DEZEMBRO DE 2007

Aprovada com parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE em AGRONOMIA pela Comissão Examinadora:

Prof^a Dr^a Kuniko Iwamoto Haga

Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Prof. Dr. Marco Eustáquio de Sá

Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Prof^a Dr^a Juliana Domingues Lima

Coordenadoria Executiva / Unidade de Registro

OFEREÇO

Ao meu esposo José Nogueira Neto pelo amor, apoio e dedicação a mim prestados em todos os momentos e em especial na realização deste trabalho.

Amo você!!!

DEDICO

Com todo amor e carinho aos meus pais Araci Maria de Oliveira e Jeová Rodrigues de Oliveira, pelo exemplo de vida, ensinamentos, apoio, dedicação e por todos os esforços que sempre fizeram em todas as etapas de minha vida.

Aos meus irmãos Sandro Luiz de Oliveira e Leide de Oliveira, pelo amor, amizade e companheirismo e aos meus sobrinhos Malú Mayara Magri de Oliveira e Alessandro Magri de Oliveira que sempre me deram motivos para sorrir!

AGRADECIMENTOS

Primeiro à Deus que tem abençoado a minha vida e sempre está dirigindo o meu caminho. Todas as minhas conquistas eu devo exclusivamente a Ti meu Senhor e Salvador!

À Professora Dr^a. Kuniko Iwamoto Haga, pela valiosa orientação, confiança, dedicação, ensinamentos, respeito e seriedade à mim prestados durante todos os momentos.

Aos Professores Dr^a. Juliana Domingues Lima, Dr. Marco Eustáquio de Sá, Dr. Orivaldo Arf e Dr. Salatiér Buzetti, pela participação e colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

À professora Dr^a. Jacira dos Santos Isepon pelas informações e colaborações.

À Técnica Circélia dos Santos P. S. Caetano pelo auxílio na realização das análises laboratoriais, pela amizade e prestatividade em todos os momentos.

Aos funcionários Selma Maria Bozzite de Moraes, Alexandre Marques da Silva, Vera Lúcia M. C. Andrade, Aparecida Duarte Cardoso, Juarez dos Santos e Sidival Antunes de Carvalho pelas colaborações.

Aos funcionários da Fazenda de Ensino Pesquisa e Extensão pelo auxílio na condução do experimento.

À CnPQ pela bolsa concedida durante o mestrado.

Ao bibliotecário João Josué Barbosa, pela correção das referências bibliográficas.

Aos colegas Alessander Seleguini e Eliana Duarte Cardoso pela grandiosa amizade, companheirismo e pelas importantes colaborações e contribuições para a realização desse trabalho.

E aos colegas Vagner Suzuki, Talles Eduardo B. dos Santos, Mércia Ikaugi B. Celoto, Edicléia A. Silva, Katiane Santiago Silva e Cleiton G. S. Benett pela amizade e colaborações.

Salmo de ações de graças

Celebrai com júbilo
ao Senhor,
todas as terras.

Servi ao Senhor com alegria,
apresentai-vos diante dele
com cântico.

Sabei que o Senhor é Deus;
foi ele quem nos fez,
e dele somos;
somos o seu povo
e rebanho do seu pastoreio.

Entrai por suas portas
com ações de graças
e nos seus átrios,
com hinos de louvor;
rendei-lhe graças
e bendizei-lhe o nome.

Porque o Senhor é bom,
a sua misericórdia
dura para sempre,
e, de geração em geração,
a sua fidelidade.

Salmo 100

Efeito de B, Mo e Zn no conteúdo de proteínas, carboidratos e aminoácidos livres, em grãos e sementes de ervilha (*Pisum sativum* L.)

Autor: Débora Cristiane Nogueira
Orientador: Prof^a. Dr^a. Kuniko Iwamoto Haga

RESUMO

A região de cerrado tem como principais fatores limitantes da produção agrícola as condições climáticas e solos com baixa fertilidade natural. Neste sentido, são importantes estudos para entender os fatores que contribuem para o desempenho das culturas em condições de cerrado, como por exemplo a ervilha. O objetivo foi avaliar o efeito da aplicação foliar do boro, molibdênio e zinco na qualidade de grãos de ervilha e produtividade. A ervilha utilizada foi a variedade Utrillo, cujo cultivo foi realizado na área experimental da Fazenda de Ensino Pesquisa e Extensão-FE-UNESP-Campus de Ilha Solteira. Os tratamentos constaram das combinações entre aplicação de boro, molibdênio e zinco, (Testemunha, B, Mo, Zn, B+Mo, B+Zn, Mo+Zn, B+Mo+Zn). O Mo foi aplicado via foliar aos 20 dias após a emergência das plantas (DAE). O B e o Zn foram aplicados também via foliar aos 30 DAE. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições, as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de significância. Analisou-se produtividade e o conteúdo de nutrientes, de amido, de aminoácidos, de proteínas nos grãos e sementes e a qualidade fisiológica das sementes. Os resultados indicaram que os tratamentos alteram significativamente apenas o conteúdo de magnésio e de cobre nos grãos. Os demais fatores estudados não se alteraram devido ao tratamento imposto à cultura.

Palavras-chave: micronutriente, *Pisum sativum* L., qualidade fisiológica, qualidade de grãos, sementes.

Effect of B, Mo and Zn in the content of the proteins, starch and amino acids in grains and seed of pea (*Pisum sativum* L.)

Author: Débora Cristiane Nogueira
Adviser: Prof^a. Dr^a. Kuniko Iwamoto Haga

ABSTRACT

Some times the crops yield in the cerrado area is limited by weather conditions and the soil with a low fertility. The studies in this direction are important to understand the factors that contribute for the performance of the cultures in the cerrado conditions, for example pea's crop. The objective was to evaluate the effect of the foliar application of boron, molybdenum and zinc on the quality of pea grains and grain yield. For experiment were used seeds of pea, cv. Utrillo, cultivated in the experimental area of the Farm of the Teach Research and Extension-FE-UNESP- Campus de Ilha Solteira". The eight treatments consisted of the combinations among application of boron, molybdenum and zinc, (Control, B, Mo, Zn, B+Mo, B+Zn, Mo+Zn, B+Mo+Zn). 20 days after emergency (DAE) was applied Mo by foliar. B and Zn were applied by foliar at 30 DAE. The experimental delineation used was the randomized blocks with four repetitions; the averages had been compared by Duncan test at 5% of significance. It was analyzed the grain nutrient content, grain yield, starch, aminoacids and proteins content in the grains and seeds and physiological seed quality. The results had indicated that the treatments modify significantly only to the copper and magnesium content in the grains. The other studied factors they didn't alter due to the treatment imposed to the culture.

Key words: micronutrient, *Pisum sativum* L., physiological quality, quality of grains, seeds.

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Resultados da análise química (macronutrientes) do solo da camada de 0-0,2m..... | 23 |
| Tabela 2. Resultados da análise química (micronutrientes) do solo da camada de 0-0,2m e faixas de interpretação dos resultados..... | 24 |
| Tabela 3. Valores médios de produtividade de vagem, grãos e sementes (kg ha^{-1}) de ervilha variedade Utrillo para tratamentos com B, Mo e Zn.. Ilha Solteira – SP, 2006..... | 35 |
| Tabela 4. Conteúdos médios de macronutrientes (g kg^{-1} de massa de matéria seca) e micronutrientes (mg kg^{-1} de massa de matéria seca) em grãos de ervilha variedade Utrillo nos tratamentos com B, Mo e Zn. . Ilha Solteira – SP. 2006..... | 36 |
| Tabela 5. Conteúdos médios de aminoácidos, açúcar livre, WSP, amido e proteína (mg g^{-1}) em grãos verdes de ervilha cultivar Utrillo para tratamentos com B, Mo e Zn. Ilha Solteira – SP, 2006. | 38 |
| Tabela 6. Conteúdos médios de aminoácidos, açúcar livre, WSP, amido e proteína (mg g^{-1}) em sementes de ervilha cultivar Utrillo, submetidas ao tratamento com B, Mo e Zn. Ilha Solteira –SP, 2006..... | 40 |
| Tabela 7. Valores médios de vigor (%), germinação (%), condutividade elétrica ($\mu\text{S/cm g}^{-1}$), emergência a campo (%) e massa de 100 sementes (g) de ervilha, cultivar Utrillo submetidas ou não ao envelhecimento acelerado obtidas de cultivo sob tratamentos com B, Mo e Zn. Ilha Solteira SP, 2006. | 43 |
| Tabela 8. Teores médios de aminoácidos, açúcar livre e proteína (mg g^{-1}) em exsudato da solução da condutividade elétrica de sementes de ervilha cultivar Utrillo para tratamentos com B, Zn e Mo. Ilha Solteira – SP, 2006..... | 44 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Médias de temperatura (°C) e precipitação pluvial (mm) no período de realização do experimento. Selvíria – MS, 2006..... | 24 |
|--|----|

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| RESUMO | |
| ABSTRACT | |
| LISTA DE TABELAS | |
| LISTA DE FIGURAS | |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 10 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 13 |
| 2.1. Ervilha | 13 |
| 2.2. Micronutrientes..... | 14 |
| 2.3. Qualidade fisiológica da semente | 17 |
| 2.3.1. Germinação | 17 |
| 2.3.2. Condutividade Elétrica. | 19 |
| 2.3.3. Envelhecimento acelerado..... | 21 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | 23 |
| 3.1. Local | 23 |
| 3.2. Material biológico..... | 25 |
| 3.3. Implantação do experimento | 25 |
| 3.4. Tratamentos | 25 |
| 3.5. Avaliações | 26 |
| 3.5.1. Avaliação de Produção..... | 26 |
| 3.5.2. Massa de 100 sementes..... | 27 |
| 3.5.3. Grau de umidade das sementes..... | 27 |
| 3.5.4. Análise da qualidade fisiológica das sementes..... | 27 |
| 3.6. Análise química | 29 |
| 3.6.1. Extração..... | 29 |
| 3.6.1.1. Aminoácidos e Açúcar Livre..... | 29 |
| 3.6.1.2. Proteína..... | 30 |
| 3.6.1.3. Polissacarídeo solúvel em água (WSP) | 30 |
| 3.6.1.4. Amido | 30 |
| 3.6.2. Quantificação | 30 |
| 3.6.2.1. Aminoácidos | 30 |
| 3.6.2.2. Carboidratos (açúcar livre, WSP e amido)..... | 31 |
| 3.6.2.3. Proteína | 31 |
| 3.6.3. Quantificação de aminoácidos, açúcar livre e proteína no exsudato da condutividade elétrica..... | 32 |
| 3.6.4. Determinação do teor de nutrientes dos grãos verdes | 32 |
| 3.6.5. Análises Estatísticas | 33 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 34 |
| 5- CONCLUSÃO..... | 45 |
| 6.REFERÊNCIAS..... | 46 |

1. INTRODUÇÃO

A origem da ervilha (*Pisum sativum* L.) é atribuída ao Continente Europeu e também, parte da Ásia. No Brasil, foi introduzida inicialmente na região Sul e, nos últimos 20 anos no cerrado. É uma leguminosa com características altamente nutritivas, sendo amplamente utilizada na alimentação humana, como forragem para animais e na produção de silagem (RURALNET, 2005). É empregada na alimentação humana na forma de grãos verdes *in natura*, para congelamento e enlatamento e os grãos secos para reidratação, na alimentação animal como ração. Pertence à família Fabaceae e seus grãos são ricos em proteínas, com cerca de 22g desse elemento em 100g do produto. Em sua composição encontram-se também fósforo, cálcio, vitamina A, B1, B2, vitamina C e ferro. É utilizada, também, como cobertura vegetal de solo (TOMM; LIMA, 2003).

Devido à sua origem européia e asiática, o cultivo da ervilha é, em princípio, indicado para climas temperados, mais frios que a média brasileira, porém, houve uma boa adaptação na região dos cerrados do Brasil. A germinação ocorre em temperaturas que vão de 5 a 25 °C, com melhores resultados na faixa de 14 a 17 ou 18 °C. Apesar de “gostar” do frio, as ervilhas não suportam geadas devendo, desta forma, serem evitadas regiões mais sujeitas a este evento. É uma cultura que requer pouca chuva e os melhores solos para seu plantio são os argilo-arenosos, férteis, com pH entre 5,9 e 6,8 e que apresentem uma boa aeração e que sejam drenados (RURALNET, 2005).

Segundo Peres et al (1989), o cultivo da ervilha em diversas regiões do Brasil, tornou-se uma alternativa economicamente viável a partir dos estudos de manejo e seleção de variedades realizadas pela Embrapa Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças. Por se situarem em região de clima ameno, as várzeas da região sul de Minas Gerais são propícias ao cultivo dessa leguminosa e proporcionam grandes produtividades quando irrigadas (REIS, 1989).

Os solos sob vegetação de cerrado, os quais representam quase um quarto do território nacional, caracterizam-se principalmente pela baixa fertilidade natural e, na maioria, tem baixas disponibilidades de micronutrientes, principalmente zinco, boro e molibdênio (KORNDÖRFER et al, 1995).

O boro (B) é o micronutriente que, juntamente com o zinco, freqüentemente se mostra mais deficiente nos solos brasileiros (MALAVOLTA, 1980). Em casos de deficiência, a adição de boro pode ser feita através de tratamento de sementes, via solo ou em aplicações foliares.

O B é exigido comparativamente em quantidade elevada durante a germinação do grão pólen e crescimento do tubo polínico e verifica-se redução de transporte de açúcares, quando ocorre deficiência deste elemento; e segundo Vincent (1980), o B permite um transporte de duas vias entre o nódulo e a planta.

O zinco é absorvido pelas plantas na forma catiônica, ocorre dentro das plantas somente na forma Zn^{2+} . Suas funções principais estão relacionadas com o acoplamento de enzimas aos seus substratos e formação de quelatos com diferentes compostos orgânicos, incluindo polipeptídios (FURLANI, 2004).

O molibdênio é um elemento de transição que é absorvido e ocorre nas plantas na forma de ânion molibdato, em geral, no estado de oxidação mais elevado (Mo^{6+}), mas pode ocorrer também como Mo^{5+} e Mo^{4+} (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Segundo Ambrosano et al (1996) o molibdênio, pode contribuir efetivamente para o aumento nos teores de nitrogênio das folhas de feijoeiro cultivado sob irrigação, em solos com baixa fertilidade natural.

A região de cerrado apresenta fator limitante na produção devido às condições climáticas e por apresentar solos com baixa fertilidade mas é uma região com grande potencial agricultável, em função do relevo. Neste sentido são importantes estudos para

entender os fatores que contribuem para o desempenho das culturas em condições de cerrado, por exemplo ervilha.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do boro, zinco e molibdênio no conteúdo de proteínas, carboidratos e aminoácidos dos grãos e das sementes e qualidade das sementes de ervilha.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Ervilha

O desenvolvimento e cultivo comercial de ervilha no Brasil iniciaram e constituíram a primeira fase com a produção para colheita e processamento de grãos verdes, no sul do estado do Rio Grande do Sul (Pelotas, Rio Grande e Rosário do Sul), de 1943 a 1986. A segunda fase compreende a produção de grãos secos para reidratação e de grãos verdes para congelamento e enlatamento principalmente no Triângulo Mineiro e Alto Parnaíba, no estado de Minas Gerais, de 1985 até os dias atuais (RODRIGUES, 1989 citado por TOMM; LIMA, 2003).

No Canadá, nos EUA e na Europa, têm sido desenvolvidas variedades especificamente para alimentação animal. O objetivo atual é desenvolver o cultivo de ervilha no Sul do Brasil, visando o consumo animal e realizado com equipamentos já disponíveis e usado regularmente na produção de grãos. Assim, a seleção de variedades e a tecnologia de produção devem ser ajustadas para a produção de grãos secos, em vez de serem direcionadas à colheita de grãos verdes.

O cultivo de ervilhas no Brasil apresenta uma produtividade cerca de 30 a 40% maior que a média mundial, por hectare, podendo chegar a valores superiores a 1400 kg. Na região Centro-Oeste, os estados que concentram maior área cultivada são Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. Também são encontradas áreas plantadas em Goiás e, na região Sudeste, no estado de Minas Gerais.

O plantio é feito em julho na região Sul devido às baixas temperaturas, e em abril na região dos cerrados, logo após o término das chuvas. As sementes são colocadas em sulcos de 5 cm de profundidade, com um espaçamento entre as plantas que pode variar, de acordo com o porte da cultivar escolhida. A colheita ocorre em diferentes períodos, de acordo com a utilização das ervilhas assim para produção de vagens, a colheita deve ser iniciada cerca de 70

dias após a semeadura, quando as ervilhas ainda não estão maduras. Para a produção de grãos secos, a colheita deve ser entre 110 e 130 dias após a semeadura (RURALNET, 2005).

Cardoso (2003) obteve produção média de 340g de vagens/planta de ervilha (variedade Utrillo) quando aplicou 3 kg ha⁻¹ de zinco via foliar, e produtividade de 8473 kg ha⁻¹ de grãos verdes, quando aplicou 120 kg ha⁻¹ de nitrogênio (CARDOSO, 2006). Del Grossi (2007) obteve produção de 18.816 kg ha⁻¹ na forma de vagem quando se aplicou em cobertura o nitrogênio na dose de 120 kg ha⁻¹ e o potássio na dose de 30 kg ha⁻¹.

2.2. Micronutrientes

As quantidades de micronutrientes exigidas pelas culturas são baixas, o que dificulta sua aplicação uniforme no campo. Por isso, tanto os fertilizantes sólidos como os líquidos são utilizados como veículos para se adicionar micronutrientes ao solo (MORTVEDT, 1979 citado por KORNDÖRFER et al, 1995).

As plantas têm a capacidade de absorver nutrientes pelas folhas (ROSOLEM, 1984) e, por essa razão as adubações foliares de um ou mais nutrientes são viáveis. No caso dos micronutrientes, que são requeridos em pequenas quantidades, podem satisfazer facilmente as necessidades da planta por meio de pulverizações, com pequenas quantidades desses nutrientes. Contudo, a baixa mobilidade desses nutrientes, faz com que sejam necessárias várias aplicações durante o ciclo, especialmente de boro. Essa prática pode ser aliada aos tratamentos fitossanitários, como no caso da cultura do feijoeiro, tornando-a mais econômica e portanto viável a aplicação (AMBROSANO et al, 1996).

Segundo Furlani (2004) as funções de B estão relacionadas com a formação e estabilização da parede celular, da interface da parede celular com a membrana plasmática e com a lignificação e diferenciação do xilema. Sua deficiência causa os seguintes efeitos primários: mudança na composição química e ultra-estrutura da parede celular; mudança no metabolismo de fenóis (acumulação de certos fenólicos); inibição da síntese de lignina e

estímulo da atividade da oxidase de AIA; diminuição do nível de AIA difusível; os efeitos citados resultam em mudanças fisiológicas e morfológicas da interface entre a parede celular e a membrana plasmática, devido à inibição de enzimas na membrana plasmática e outros processos da absorção iônica (atividade da ATPase, potencial da membrana, fluxo de íons); e à inibição da elongação (crescimento e diferenciação no xilema).

Em consequência a deficiência de B resulta nos seguintes efeitos secundários: acúmulo de compostos fenólicos, diminuição de nível de AIA difusível e aumento da produção de radicais livres de superóxidos; sintomas induzidos de deficiência de Ca. O aumento de radicais livres de superóxidos desarranja a membrana plasmática, em consequência dos efeitos no xilema, ocorrem mudanças na distribuição de carboidratos; em consequência de todos os demais efeitos, ocorrem alterações no metabolismo de fitormônios e de RNA/DNA.

Dentre os micronutrientes, o zinco é aquele cuja deficiência é quase generalizada nos solos sob cerrados no Brasil Central, sendo a maioria desses solos formados por latossolos e podzólicos altamente intemperizados, ácidos e com baixa capacidade de troca de cátions (LOPES, 1984).

Muitas enzimas são ativadas pelo Zn, seja pela sua função no acoplamento da enzima ao seu substrato, seja pelo efeito na conformação das moléculas. Por essa razão, as consequências da deficiência de Zn são complexas e as plantas passam a apresentar mudanças no metabolismo de carboidratos, proteínas e auxinas, além de desarranjos na integridade das membranas. O Zn possui ainda importante função na expressão e regulação gênica (FURLANI, 2004).

Para correção de deficiências de zinco, têm sido utilizados quelatos, sulfatos ou óxidos em aplicações foliares (OLIVEIRA et al, 1996) ou no solo (MELLO, 1990). De acordo com Oliveira et al (1996) as aplicações foliares fornecem os melhores resultados, como o sulfato

de zinco heptahidratado, a partir de três semanas após a emergência das plântulas. Entretanto, o seu efeito também não é benéfico em qualquer situação, como em solo rico em Zn.

Segundo Alloway (2004), em plantas, o zinco tem papel fundamental como um componente estrutural ou co-fator regulador de uma gama de enzimas diferentes e envolvidas em muitos caminhos bioquímicos importantes e estes estão principalmente relacionados com o metabolismo de carboidratos, na fotossíntese e na conversão de açúcares; no metabolismo de proteína; na formação de pólen; na manutenção da integridade de membranas e na resistência para a infecção a certos patógenos.

O molibdênio exerce papel indispensável na assimilação do nitrato absorvido pelas plantas, atuando em nível da redutase do nitrato. Portanto, qualquer deficiência do elemento pode comprometer o metabolismo do nitrogênio, diminuindo o rendimento das culturas (RITCHEY et al, 1986 citados por FERREIRA et al, 2001). Segundo DECHEN et al (1991) a importância do Mo para as leguminosas está na sua relação direta com o processo biológico de fixação do nitrogênio (a nitrogenase catalisa a redução do N_2 atmosférico até NH_3) e na redução do nitrogênio (redutase do nitrato que catalisa a redução do NO_3 a NO_2).

De acordo com Vieira (1994a), o Mo favorece a fixação simbiótica (sistema nitrogenase) e a assimilação de nitrogênio (sistema nitrato-redutase), embora sua necessidade para o feijoeiro esteja quantitativamente mais relacionada à atividade da redutase do nitrato, uma vez que seu sistema de fixação é de baixa eficiência. Lima et al (1999) mostram excelentes resultados com a aplicação foliar de Mo (20 a 90g ha^{-1}) na cultura do feijão. Segundo Silveira et al (1996) o rendimento e o peso de cem grãos de feijão aumentaram linearmente com o aumento das doses de Mo aplicado ao solo.

Embora as plantas necessitem apenas de pequenas quantidades de Mo, alguns solos suprem níveis inadequados. Pequenas adições de molibdênio nesses solos podem melhorar

bastante o crescimento de culturas e forrageiras a um custo desprezível (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Devido à maior frequência de resposta do feijoeiro ao Mo e considerando o seu envolvimento no metabolismo do N, é possível que o efeito positivo de fertilizantes foliares contendo misturas ou combinações de micronutrientes seja devido, em grande parte dos casos, ao Mo (LIMA et al, 1999). Em milho a aplicação de molibdênio e de Zn, aumentou o teor de proteína nos grãos (FERREIRA et al, 2001).

2.3. Qualidade fisiológica da semente

Dado o fato de que a utilização de sementes de alta qualidade constitui a base para elevação da produtividade agrícola, o componente fisiológico da qualidade de sementes tem sido objeto de inúmeras pesquisas, em decorrência das sementes estarem sujeitas a uma série de mudanças degenerativas após a sua maturidade (FREITAS; NASCIMENTO, 2006).

A qualidade fisiológica das sementes tem sido caracterizada pela germinação e pelo vigor. Vigor de sementes pode ser definido como a soma de atributos que conferem à semente o potencial para germinar, emergir e resultar rapidamente em plântulas normais sob ampla diversidade de condições ambientais. Dessa forma, o objetivo básico dos testes de vigor é identificar diferenças importantes no potencial fisiológico de lotes de sementes, especialmente daqueles que apresentam poder germinativo elevado e semelhante (MARCOS FILHO, 1999b).

A qualidade fisiológica tem sido um dos aspectos mais pesquisados nos últimos anos em decorrência das sementes estarem sujeitas a uma série de mudanças degenerativas de origem bioquímica, fisiológica e física após a sua maturação as quais estão associadas com a redução do vigor (ABDUL-BAKI ; ANDERSON, 1972a).

2.3.1. Germinação

A qualidade dos lotes de sementes é, rotineiramente, avaliada pelo teste padrão de germinação, que supre condições favoráveis de umidade e temperatura, permitindo expressar o potencial máximo de produzir plântulas normais. Entretanto, esse teste pode ser pouco eficiente para indicar o desempenho no campo, onde as condições nem sempre são ideais. Portanto, a percentagem de emergência de plântulas em campo geralmente é menor do que a percentagem de germinação obtida com o teste padrão de germinação (JOHNSON ; WAX, 1978, YAKLICH ; KULIK, 1979).

Devido às limitações apresentadas pelo teste de germinação no sentido de diferenciar melhor o lote de sementes, têm sido desenvolvidos testes de vigor, principalmente para as grandes culturas, como por exemplo, o teste frio em milho (CÍCERO ; VIEIRA, 1994), o teste de envelhecimento acelerado para soja (VIEIRA, 1994b) e o teste de condutividade elétrica para ervilha (CALIARI; MARCOS FILHO, 1990, BLADON ; BIDDLE, 1992).

Apesar do seu uso generalizado, os resultados oriundos do teste padrão de germinação, realizado sob condições ótimas em laboratório, normalmente não predizem o potencial de emergência e o comportamento das plântulas no campo, onde ocorrem condições quase sempre desfavoráveis. Além disso, o tempo requerido para a realização do teste de germinação (mínimo de 8 dias) possibilita o surgimento de fungos, que podem interferir no resultado final. Outros fatores inerentes às condições do próprio teste, como qualidade e umidade do substrato utilizado e temperatura, podem causar variações indesejáveis (AMARAL ; PESKE, 2000).

A avaliação da qualidade fisiológica da semente para fins de semeadura em campo e de comercialização de lotes tem sido fundamentalmente baseada no teste de germinação. Pelas condições essencialmente favoráveis de sua condução, o teste de germinação não detecta diferenças mais sutis em termos de deterioração, além de não avaliar o potencial de armazenamento e o desempenho das sementes em condições gerais de campo. Assim sendo,

não apresenta sensibilidade suficiente para avaliar o estado fisiológico das sementes (ISLAM et al, 1973). Contudo, fornece dados que podem ser utilizados juntamente com outras informações, para a comparação entre lotes de sementes (MARCOS FILHO et al, 1987). Daí a importância de se avaliar o vigor das sementes como complemento ao teste de germinação. Para isso, vários procedimentos têm sido usados; dentre eles o teste de condutividade elétrica, usando-se a solução de embebição das sementes (DUTRA et al, 2006).

2.3.2. Condutividade Elétrica.

O teste de condutividade elétrica baseia-se no princípio de que com o processo de deterioração ocorre a lixiviação dos constituintes celulares das sementes embebidas em água devido à perda da integridade dos sistemas celulares. Assim, baixa condutividade significa alta qualidade da semente e alta condutividade, ou seja, maior saída de lixiviados da semente, sugere o menor vigor desta (VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999).

A condutividade elétrica como teste de vigor é recomendado para sementes de ervilha e sugerido para soja (Association of Official Seed Analysts, 2002). Marcos Filho et al (1990) , Dias ; Marcos Filho (1995) obtiveram distinção entre lotes de sementes de soja, usando-se o teste de condutividade elétrica. Dias et al (1998) concluíram que o teste de condutividade elétrica foi eficiente para a avaliação do vigor das sementes de feijão-de-vagem e quiabo. Tem-se observado relação entre os resultados do teste de condutividade elétrica e os de emergência de plântulas em campo para sementes de soja (VIEIRA et al, 1999ab).

Estes resultados têm sido corroborados por várias pesquisas que mostram que a diminuição da germinação e do vigor é diretamente proporcional à elevação da concentração de eletrólitos liberados pelas sementes durante a embebição (MCDONALD ; WILSON, 1979, POWELL, 1986, MARCOS FILHO et al, 1990).

De acordo com Abdul-Baki (1980), durante a embebição, os sistemas de membranas das sementes se reorganizam, readquirindo sua permeabilidade, e o ideal é que este processo ocorra no menor período possível, para reduzir a ocorrência de misturas indesejáveis do conteúdo celular e a lixiviação comprometedora de eletrólitos. Portanto, é essa velocidade de reorganização do sistema de membranas que reflete o vigor da semente.

Woodstock (1973) observou que a exsudação de constituintes celulares mostrou-se inversamente associada ao vigor, com base em três fatores: reflete a perda de integridade das membranas, representa a conseqüente perda de compartimentalização dos constituintes celulares, e constitui excelente substrato para o desenvolvimento de microrganismos, acelerando o processo de deterioração. Desse modo, a perda da integridade do sistema de membrana celular, causada principalmente pela oxidação de lipídios, promove o descontrole do metabolismo e das trocas de água e de solutos entre as células e o meio exterior, com reflexos diretos sobre a qualidade fisiológica das sementes. Com relação à natureza dos constituintes, as observações são que, por ocasião da embebição as sementes liberam grande variedade de substâncias, tais como íons inorgânicos, açúcares, aminoácidos, enzimas, nucleosídeos e ácidos graxos (MATTHEWS ; BRADNOCK, 1967, ABDUL-BAKI ; ANDERSON, 1972b, WOODSTOCK, 1988). A quantidade e intensidade de material lixiviado estão diretamente relacionadas à permeabilidade das membranas e, conseqüentemente, são influenciadas pela idade das sementes, pela sua condição fisiológica e, também, pela incidência de danificações (POWELL, 1986).

O efeito da temperatura se manifesta, basicamente, sobre a quantidade e velocidade de liberação de exsudatos durante a embebição sem alterar, necessariamente, a classificação dos lotes quanto ao vigor (HAMPTON ; TEKRONY, 1995). No caso de sementes relativamente pequenas, como as de hortaliças, a lixiviação máxima pode ocorrer em período inferior a duas horas (MURPHY ; NOLAND, 1982), ao passo que em sementes maiores, como as de soja,

verifica-se aumento da lixiviação até 24-30 horas após o início da embebição, a 25°C (LOEFFLER et al, 1988).

Estudos sobre o potencial fisiológico de sementes de diferentes hortaliças como beterraba, tomate, cenoura, ervilha tem evidenciado que o teste de germinação não traduz totalmente o potencial de desempenho de sementes dessas espécies (NASCIMENTO, 1994). Portanto, o uso de testes de vigor é de grande utilidade no monitoramento da qualidade das sementes (PANOBIANCO ; MARCOS FILHO, 2001).

2.3.3. Envelhecimento acelerado

O teste de envelhecimento acelerado tem sido um dos testes de vigor mais utilizados devido a sua aplicabilidade para sementes de diversas culturas (McDONALD, 1995). Embora o teste de envelhecimento acelerado já tenha evoluído suficientemente em direção à padronização, para várias espécies, ainda há vários estudos em andamento com o objetivo de aprimorar sua metodologia (MARCOS FILHO, 1999a). Nesse teste, as sementes são submetidas à temperatura e umidade relativa elevadas por período relativamente curto, sendo em seguida, colocadas para germinar. Lotes de sementes de alto vigor devem manter sua viabilidade quando submetidos a tais condições, enquanto que os de baixo vigor terão sua viabilidade reduzida (AOSA, 1983). O teste de envelhecimento acelerado foi originalmente desenvolvido para determinar o potencial de armazenamento das sementes. No entanto, além de estudos nesse sentido, também têm sido realizados trabalhos para verificar sua eficiência na avaliação do potencial de emergência das plântulas em campo. Por exemplo, Piana et al (1995) verificaram que os resultados dos testes de envelhecimento acelerado e de frio foram os que apresentaram relação mais estreita com a emergência das plântulas de cebola em campo e com a obtenção de mudas vigorosas.

Pesquisas conduzidas com cebola (PIANA et al, 1995), cenoura (SPINOLA et al, 1998), tomate (RODO et al, 1998) e brócolos (MELLO et al, 1999) revelaram que o teste de envelhecimento acelerado foi capaz de detectar diferenças no vigor de sementes dessas espécies.

Vários fatores afetam o comportamento das sementes submetidas ao teste, sendo o binômio temperatura e período de envelhecimento o mais estudado. O teste de envelhecimento acelerado pode ser conduzido com temperaturas entre 41 e 45°C, sendo que mais recentemente a maioria dos trabalhos indica o uso de 41°C (MARCOS FILHO, 1999b). No entanto, Menezes; Nascimento (1988) constataram que a temperatura de 37°C e o período de 72 horas foram os mais eficientes para avaliação do vigor de sementes de ervilha.

Para a maioria das hortaliças, o teste de envelhecimento acelerado pode apresentar certas limitações, como a desuniformidade de absorção de água entre as amostras, o que pode resultar em deterioração diferenciada, comprometendo os resultados pós-envelhecimento.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local

O experimento foi conduzido na área experimental da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia da UNESP, Campus de Ilha Solteira; localizada no município de Selvíria, Estado de Mato Grosso do Sul, coordenadas Geográficas 51°22' de Longitude Oeste de Greenwich e 20°22' de latitude Sul, com altitude de 335 metros. O solo é do tipo Latossolo Vermelho-escuro epi-eutrófico álico, textura argilosa, fase relevo suave ondulado, originalmente ocupado por vegetação de cerrado. Quanto ao clima, a precipitação anual está em torno de 1370 mm, a temperatura média anual de 23,5°C e a umidade relativa do ar entre 70 e 80% (CENTURION, 1981).

Tabela 1. Resultados da análise química (macronutrientes) do solo da camada de 0-0,2m.

| P-resina | M.O. | pH | K | Ca | Mg | H+Al | Al | SB | CTC | V |
|--------------------|-------------------|-------------------|----------------------------------|----|----|------|----|------|------|----|
| mg/dm ₃ | g/dm ³ | CaCl ₂ | mmol/dm ³ | | | | | | % | |
| 20 | 23 | 5,8 | 4,0 | 30 | 19 | 25 | 0 | 53,4 | 78,4 | 68 |

Análises realizadas no laboratório de fertilidade do solo da FE/Unesp-Campus de Ilha Solteira.

Tabela 2. Resultados da análise química (micronutrientes) do solo da camada de 0-0,2m e faixas de interpretação dos resultados.

| | Cu DTPA | Fe DTPA | Mn DTPA | Zn DTPA | B Ág. Quente | S-SO ₄ ⁻² Ca(H ₂ PO ₄) |
|-------------------|--------------------|------------|------------|------------|-----------------|--|
| | mg/dm ³ | | | | | |
| | --- | | | | | |
| | 3,5 | 6 | 14,0 | 0,3 | 0,16 | 64 |
| Teor Baixo | 0,0 - 0,2 | 0 - 4 | 0,0 - 1,2 | 0,0 - 0,5 | 0,0 - 0,20 | 0 - 4 |
| Teor Médio | 0,3 - 0,8 | 5 - 12 | 1,3 - 5,0 | 0,6 - 1,2 | 0,21 - 0,60 | 5 - 10 |
| Teor Alto | > 0,8 | > 12 | > 5,0 | > 1,2 | > 0,60 | > 10 |

Análises realizadas no laboratório de fertilidade do solo da FE/Unesp-Campus de Ilha Solteira.

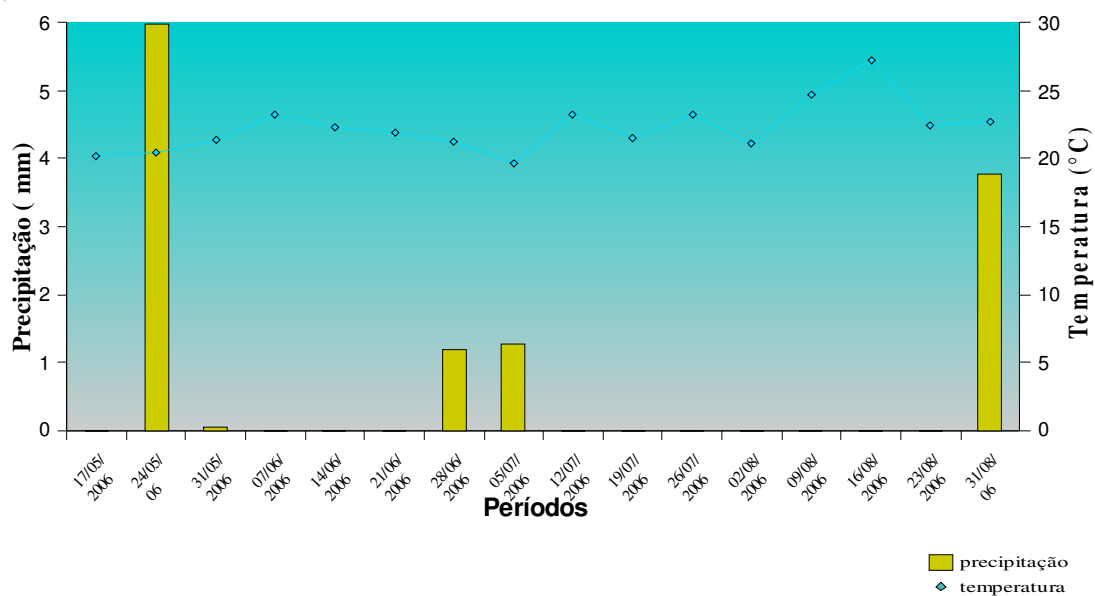


Figura 1. Médias de temperatura (°C) e precipitação pluvial (mm) no período de realização do experimento. Selvíria – MS, 2006.

3.2. Material biológico

Para a semeadura foram utilizadas sementes de ervilha grão verde da variedade Utrillo que apresenta excelente performance, produz vagens e grãos graúdos. Esta cultivar é recomendada para plantio nos meses de abril a agosto, mas em regiões cujo clima apresenta temperaturas baixas, com ocorrências de geada, pode ser plantada a partir de março. É destinada para comercialização “in natura”, com vagens ou debulhadas para congelamento.

As plantas são vigorosas com porte determinado de cerca de 80 cm de altura. alta densidade de plantio. As vagens se apresentam graúdas com comprimento variando de 12 a 15 cm, contém de 8 a 10 grãos com diâmetro entre 8 a 10 mm. O ciclo desta cultivar é em torno de 70 a 80 dias.

3.3. Implantação do experimento

Para o preparo do solo da área realizou-se aração seguida de gradagens para nivelamento. O espaçamento adotado para o plantio foi de 20 cm entre plantas e 30 cm entre linhas densidade de 170 plantas/m². Para a adubação de plantio foi aplicado 250 kg ha⁻¹ de NPK da formulação 8:28:16 nos sulcos. Durante o desenvolvimento da cultura realizaram-se os tratos culturais normais recomendados e irrigação semanal (15 mm).

3.4. Tratamentos

O experimento foi instalado em 4 blocos casualizados cada um com 8 parcelas, sendo estas constituídas de 5 linhas de plantio de 5m cada uma. Na área experimental fez-se a aplicação de nitrogênio em cobertura na quantidade recomendada para a cultura de 100 kg ha⁻¹, 20 dias após a emergência das plântulas utilizando-se como fonte a uréia.

Quanto aos micronutrientes os tratamentos constaram da aplicação via foliar de diferentes combinações entre eles. O molibdênio foi aplicado na quantidade recomendada de 75 g ha^{-1} utilizando-se como fonte o molibdato de sódio aos 20 DAE e aos 30 DAE foram aplicados o zinco e o boro (3 kg ha^{-1} e 40 g ha^{-1} respectivamente), sendo o sulfato de zinco e o ácido bórico as fontes utilizadas.

As combinações dos tratamentos foram as seguintes: Testemunha, B, Mo, Zn, B+Mo, B+Zn, Mo+Zn e B+Mo+Zn. Esses tratamentos foram realizados em toda a área experimental. A colheita de grãos verdes foi realizada em duas vezes, manualmente, aos 72 e 87 dias após a emergência e das sementes aos 100 DAE, quando as plantas se apresentavam secas.

A colheita de grãos verdes foi realizada nas duas linhas centrais, deixando 0,5m nas extremidades e para as sementes, foram colhidas plantas de uma linha na área útil, descartando-se também 0,5m nas extremidades.

3.5. Avaliações

A colheita tanto dos grãos verdes como de sementes foi processada e quantificada para o cálculo da produtividade, cujo valor foi obtido em kg ha^{-1} , de todas as repetições de cada tratamento.

Foram realizadas testes em laboratório para análise da qualidade das sementes, através da germinação das sementes padrão e envelhecidas, teste de condutividade das sementes padrão e envelhecidas, análise química do exsudato da condutividade elétrica e determinação do conteúdo de proteína, carboidratos e aminoácidos dos grãos, sementes e avaliação de macro e micronutrientes contidos nos grãos.

3.5.1. Avaliação de Produção

A produção de grãos verdes foi avaliada quando a maior parte das vagens apresentou-se com vagem cheia. A produção por hectare foi calculada a partir da massa de grãos verdes da

área útil, soma das duas colheitas (72 e 87 DAE) e nas sementes a produção por hectare foi calculada a partir da massa de sementes da área útil.

3.5.2. Massa de 100 sementes

Realizada através da pesagem de 100 sementes de cada tratamento em balança analítica.

3.5.3. Grau de umidade das sementes

Realizado de acordo com as Regras para análise de sementes (BRASIL,1992), utilizando-se duas amostras para cada tratamento, cujas massas foram determinadas e colocadas em estufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, e então, novas massas foram obtidas, para o cálculo do grau de umidade das sementes. O teor de umidade obtido foi utilizado para a correção dos resultados obtidos para a determinação do conteúdo de nutrientes dos grãos e da condutividade elétrica em que as sementes sofreram envelhecimento acelerado.

3.5.4. Análise da qualidade fisiológica das sementes

Teste de germinação: foi realizado com quatro subamostras de 50 sementes para cada tratamento, em rolos de papel-toalha Germitest a 25°C , sendo o substrato umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do papel, de forma a uniformizar o teste. As contagens foram realizadas segundo as Regras (BRASIL,1992), modificado, aos 4 e 7 dias após a semeadura para análise de sementes.

Vigor - Primeira contagem de germinação: a primeira contagem de germinação foi realizada aos 4 dias após a montagem, contando-se o número de plântulas normais.

Teste de emergência em campo: avaliado em campo esse teste constou com a sementeira de 50 sementes de ervilha (3 repetições) de cada tratamento. As sementes foram distribuídas em sulcos com 2 cm de profundidade e espaçados 0,30 m. A contagem foi realizada no décimo segundo dia após a sementeira, considerando emergidas as plântulas que apresentaram os ganchos plumulares acima da superfície do solo. O resultado foi expresso em porcentagem.

Teste de condutividade elétrica: esse teste foi conduzido com três subamostras de 25 sementes para cada tratamento. As massa das sementes foram determinadas em balança analítica com precisão de 0,01 g e a seguir colocadas para embeber em um recipiente contendo 75 mL de água destilada e mantidas em câmara de germinação à temperatura de 25°C durante 24 horas (VIEIRA ; KRZYZANOWSKY 1999). Após esse período foi feita a leitura da condutividade elétrica na solução de embebição, usando-se um condutivímetro digital. O resultado obtido em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ foi dividido pela massa da amostra (g), para que o valor final da condutividade elétrica fosse expresso em $\mu\text{S}/\text{cm}\cdot\text{g}$. O exsudato da condutividade elétrica (solução de embebição) foi guardado em frasco escuro e congelado para posterior realização das análises de quantificação de aminoácidos, açúcar livre e proteína.

Teste de envelhecimento acelerado: Para a realização desse teste seguiu-se o método proposto por McDonald e Phaneendranath (1978) descrito por Marcos Filho (1994). Colocaram-se 225 sementes de ervilha de cada tratamento em caixas de plástico transparente (gerbox) e adicionaram-se 40 mL de água destilada no fundo, as caixas foram tampadas e em seguida colocadas em estufa à temperatura de 41° C por 72 horas. Após esse período de incubação as sementes foram retiradas e realizou-se o teste de germinação e teste de condutividade elétrica.

3.6. Análise química

A análise química constitui-se de determinações quantitativas de aminoácidos (AA), açúcar livre (AL), polissacarídeo solúvel em água (WSP), amido e proteína (PROT) dos grãos verdes e sementes.

3.6.1. Extração

Para obtenção de extração dos componentes nos grãos verdes estes foram homogeneizados em almofariz e para a extração nas sementes estas foram secas e submetidas à moagem em moinho macro de facas tipo Wiley para obtenção da farinha.

Para a extração da proteína solúvel, carboidratos (açúcar livre, polissacarídeo solúvel em água (WSP) e amido) e aminoácidos foi utilizado o método descrito por Bielski & Turner (1966). A extração foi realizada utilizando-se MCW, mistura de metanol, clorofórmio e água na proporção 12:5:3, sobre tecido vegetal. A 1g de tecido verde ou farinha foram adicionados 4 mL de MCW, homogeneizado, mantido em repouso por 24 horas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$, homogeneizado e centrifugado a 1500 rpm por 10 minutos. O sobrenadante obtido foi guardado (S1) e o resíduo foi extraído por mais duas vezes, sendo que em cada vez foi utilizado 4 mL de MCW, centrifugado e os sobrenadantes obtidos foram juntados ao S1 que totalizaram 12 mL, enquanto que o resíduo, R1, guardado.

3.6.1.1. Aminoácidos e Açúcar Livre

Para a extração desses componentes utilizou-se 4 volumes do sobrenadante S1, 1,5 volume de água destilada e 1 volume de clorofórmio que foram colocados em tubo de ensaio, homogeneizados e centrifugados a 1500 rpm por 10 minutos. Após a centrifugação descartou-se a fase orgânica e a fase aquosa (E1) foi separada e reservada.

3.6.1.2. Proteína

Para a extração de proteína foi utilizado o resíduo R1 obtido no item 3.6.1. e adicionados a ele 4 mL de NaOH (0,1 N), após a homogeneização em agitador, o material foi centrifugado a 1500 rpm por 10 minutos. A extração de proteína com NaOH foi realizada por 3 vezes. O sobrenadante (S2) obtido foi utilizado para quantificação de proteína e o resíduo (R2) usado para extração de polissacarídeo solúvel em água (WSP).

3.6.1.3. Polissacarídeo solúvel em água (WSP)

Ao resíduo R2, obtido no item anterior (3.6.1.2.), foram adicionados 4 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 10 % (w:v). A mistura foi homogeneizada em agitador e centrifugada a 1500 rpm por 10 minutos. A extração foi realizada em 3 vezes, o sobrenadante obtido em cada extração foram reservados em único tubo (S3) para quantificação de polissacarídeo solúvel em água (WSP) e o resíduo (R3) utilizado para extração de amido.

3.6.1.4. Amido

Ao resíduo R3 obtido no item 3.6.1.3 adicionaram-se 4 mL de ácido perclórico (PCA) a 30% (w:v). A mistura foi agitada para homogeneizar bem e em seguida centrifugada a 1500 rpm por 10 minutos. A extração foi repetida por 3 vezes. O sobrenadante (S4) foi reservado para quantificação de amido e o resíduo descartado.

3.6.2. Quantificação

3.6.2.1. Aminoácidos

Para a determinação quantitativa de aminoácidos contidos na fração obtida de 3.6.1.1. foi utilizado o método descrito por Yemn & Cocking (1955). Pipetou-se em tubo de ensaio 1 mL do E1 obtido e a ele foram acrescentados 500 µL de tampão citrato + 200 µL de solução

de ninhidrina (5%) em metilglicol + 1 mL de solução de KCN (2×10^{-4}) em metilglicol. A mistura foi aquecida em banho maria a 100 °C por 10 minutos, resfriada por 10 minutos em água, em seguida, completou-se o volume total para 4 mL utilizando álcool etílico a 60%. A leitura da absorvância foi realizada em espectrofotômetro a 570 nm. O padrão utilizado para obtenção da curva padrão foi leucina na faixa de 0 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

3.6.2.2. Carboidratos (açúcar livre, WSP e amido)

Para essa determinação utilizou-se 1 mL dos sobrenadantes (S1; S3; S4) obtidos nos itens 3.6.1.1.; 3.6.1.3. e 3.6.1.4., sobre este foi adicionado 1 mL de solução aquosa de fenol a 5% (w:v), misturado e sobre a mistura foram acrescentados 5 mL de ácido sulfúrico concentrado, conforme o método descrito por Dubois et al. (1956). Essa mistura foi agitada em agitador para homogeneização e mantida por 15 minutos até completar a reação. Após o resfriamento dos tubos de ensaio realizou-se a leitura da absorvância em espectrofotômetro a 490 nm. O padrão utilizado foi dextrose para a obtenção da curva padrão na faixa de concentração entre 0 e 100 μg por mL de solução.

Os valores obtidos de conteúdo de amido foram multiplicados por 0,9 (fator de conversão da glicose em amido), conforme o método do fenolsulfúrico, descrito por Dubois et al (1956).

3.6.2.3. Proteína

Para determinação da proteína contida na fração obtida do item 3.6.1.2. utilizou-se o método descrito por Bradford (1976).

Para preparação do reagente utilizado na determinação pesou-se 100 mg de “Coomassie Brilliant Blue” G250 e este dissolvido em 50 mL de etanol 95%, acrescentados

100 mL de ácido ortofosfórico 85% e o volume final completado para 1000 mL com água estilada.

A uma alíquota de 0,1 mL do sobrenadante (S2) obtido foram adicionados 5 mL do reagente. A reação se completa em dois minutos após a mistura. A leitura da absorbância foi realizada antes de 30 minutos, período em que a reação é estável, em espectrofotômetro a 595 nm. O padrão utilizado foi albumina de soro bovino na faixa de 0 a 100 µg.

3.6.3. Quantificação de aminoácidos, açúcar livre e proteína no exsudato da condutividade elétrica

Para essas determinações no exsudato de embebição das análises de condutividade elétrica das sementes de ervilha, o procedimento de análise de quantificação foi o mesmo para o exsudato da semente padrão e no exsudato das sementes submetidas ao tratamento de envelhecimento acelerado. A quantificação de aminoácidos foi realizada segundo o método descrito por Yemn ; Cocking (1955), de açúcar livre pelo método descrito por Dubois et al (1956) e de proteína pelo método descrito por Bradford (1976).

3.6.4. Determinação do teor de nutrientes dos grãos verdes

De cada amostra foi retirada uma subamostra de aproximadamente 27 g de grãos verdes de ervilha Utrillo, estes foram colocados para secar em estufa de circulação forçada a temperatura de 60 °C até massa da matéria seca constante. Após esse período os grãos foram moídos em moinho tipo Wiley. Cada amostra foi identificada e acondicionadas em sacos plásticos para realização das análises de determinação de nutrientes nos grãos. No laboratório de Análises de Sementes do Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-

Economia da Unesp – Campus de Ilha Solteira realizou-se a determinação dos teores de N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Cu, Mn e Zn, conforme metodologia descrita por Malavolta et al. (1997).

3.6.5. Análises Estatísticas

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados, nos quais os tratamentos foram realizados com quatro repetições. Todos os parâmetros avaliados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o programa SANEST e as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 3 apresenta a média da produtividade da ervilha variedade Utrillo nos diferentes tratamentos. Os resultados permitem verificar que não ocorreu diferenças significativas para os fatores estudados. Os valores de produtividade de vagem variaram de 5284 kg ha⁻¹ a 6150 kg ha⁻¹, de grãos foi entre 2363 kg ha⁻¹ a 2853 kg ha⁻¹ e de sementes na faixa de 1191 kg ha⁻¹ a 1762 kg ha⁻¹. Em ervilha, o tratamento com Mo não mostrou o mesmo desempenho verificado por Lima et al (1999), que obtiveram incremento na produção da ordem de 40% em feijão quando cultivadas sob aplicação foliar de Mo na dose de 75g ha⁻¹. A ausência de resposta da adubação com molibdênio no presente trabalho pode ser devido ao teor deste nutriente no solo, cujo nível pode sido adequado. Outra explicação para este fato seria a reserva de Mo nas sementes segundo Grassi Filho (2007).

Tabela 3. Valores médios de produtividade de vagem, grãos e sementes (kg ha^{-1}) de ervilha variedade Utrillo para tratamentos com B, Mo e Zn.. Ilha Solteira – SP, 2006.

| Tratamentos | Produtividade de Vagem | Produtividade de Grãos | Produtividade de Sementes |
|--------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|
| Testemunha | 6150 | 2829 | 1668 |
| B | 5292 | 2340 | 1191 |
| Mo | 5284 | 2363 | 1505 |
| Zn | 6110 | 2853 | 1502 |
| B+Mo | 5573 | 2488 | 1537 |
| B+Zn | 5542 | 2461 | 1361 |
| Mo+Zn | 5644 | 2497 | 1531 |
| B+Mo+Zn | 6018 | 2829 | 1763 |
| Média Geral | 5701,74 | 2598,24 | 1507,11 |
| Valor de F | 0,5883 ns | 1,2411ns | 1,5667 ns |
| C. V (%) | 15,984 | 16,694 | 18,548 |

Observação 1. Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Quanto ao conteúdo de macro e micronutrientes nos grãos de ervilha (Tabela 4) detectaram-se diferenças significativas apenas para Mg e Cu. Para Mg o maior valor foi encontrado no tratamento com B+Mo ($2,46 \text{ g kg}^{-1}$) e o menor valor no tratamento Mo+Zn ($1,95 \text{ g kg}^{-1}$). Para o cobre, o maior valor encontrado foi para o tratamento B+Mo+Zn ($5,27 \text{ mg kg}^{-1}$) e o menor valor foi para o tratamento que utilizou apenas o Zn ($1,87 \text{ mg kg}^{-1}$). Mackay et al. (1966) encontraram um antagonismo mútuo entre Cu e Mo em estudos realizados com cinco espécies de plantas. Quando um dos elementos estava presente em excesso, a toxicidade era diminuída pela aplicação do outro. Os demais nutrientes analisados não apresentaram diferenças estatísticas entre os diferentes tratamentos. Porém, Lingle et al (1963) encontraram que o Zn interferiu na absorção de Fe em plantas de soja.

Tabela 4. Conteúdos médios de macronutrientes (g kg^{-1} de massa de matéria seca) e micronutrientes (mg kg^{-1} de massa de matéria seca) em grãos de ervilha variedade Utrillo nos tratamentos com B, Mo e Zn. . Ilha Solteira – SP. 2006.

| Tratam. | Macronutrientes | | | | | Micronutrientes | | | | |
|---------------------|-----------------|--------|--------|--------|----------------|-----------------|----------------|--------|--------|--------|
| | N | P | S | Ca | Mg | K | Cu | Fe | Mn | Zn |
| Testem. | 57,38 | 3,88 | 2,02 | 1,28 | 2,06 b | 16,28 | 4,49 ab | 57,25 | 59,55 | 55,86 |
| B | 59,97 | 4,09 | 1,98 | 0,91 | 1,98 b | 16,00 | 3,38 bc | 44,47 | 62,19 | 55,33 |
| Mo | 59,39 | 3,93 | 2,02 | 0,93 | 2,04 b | 15,90 | 2,97 bc | 41,43 | 62,42 | 48,52 |
| Zn | 59,72 | 3,91 | 2,10 | 0,90 | 1,92 b | 15,64 | 1,87 c | 62,18 | 63,10 | 63,00 |
| B+Mo | 59,07 | 3,81 | 1,98 | 1,88 | 2,46 a | 15,95 | 4,11 ab | 43,21 | 61,43 | 59,48 |
| B+Zn | 59,45 | 4,11 | 2,13 | 1,16 | 2,20 ab | 15,82 | 3,36 bc | 43,43 | 59,40 | 63,32 |
| Mo+Zn | 60,07 | 3,86 | 2,18 | 0,61 | 1,95 b | 16,00 | 3,38 bc | 38,69 | 57,53 | 49,21 |
| Zn+B+Mo | 58,84 | 3,92 | 2,09 | 0,85 | 1,92 b | 15,60 | 5,27 a | 34,91 | 55,53 | 50,03 |
| M G | 59,24 | 3,94 | 2,06 | 1,07 | 2,07 | 15,90 | 3,61 | 45,70 | 60,15 | 55,60 |
| Valor de “F” | 0,51ns | 0,94ns | 0,31ns | 2,12ns | 2,80* | 0,17ns | 4,16** | 1,49ns | 1,87ns | 1,30ns |
| C.V. (%) | 4,04 | 5,61 | 12,78 | 49,70 | 10,61 | 6,51 | 27,85 | 33,20 | 6,42 | 18,83 |

Observação: 1. Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade ($p < 0,05$). 2. Onde: ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$; **ns**: não significativo. **C.V.:** Coeficiente de Variação.

Os resultados da análise do conteúdo de aminoácidos, açúcar livre, WSP, amido e proteína, expresso em grama de matéria fresca de grão verde estão apresentados na Tabela 5, os quais mostram que os tratamentos não promoveram diferenças no conteúdo das componentes analisadas.

Para os aminoácidos ocorreu variação de $40,37 \text{ mg g}^{-1}$ a $50,51 \text{ mg g}^{-1}$. Para açúcar livre os valores variaram de $48,00 \text{ mg g}^{-1}$ a $65,16 \text{ mg g}^{-1}$, WSP foi de $1,12 \text{ mg g}^{-1}$ a $5,90 \text{ mg g}^{-1}$. Com relação ao conteúdo de amido no grão verde, obteve-se variação de $11,13 \text{ mg g}^{-1}$ a $13,52 \text{ mg g}^{-1}$ e proteína variação de $5,44 \text{ mg g}^{-1}$ a $6,59 \text{ mg g}^{-1}$.

Observando os aspectos gerais, nota-se que, com exceção de aminoácidos para os outros conteúdos estudados o menor valor encontrado está relacionado ao tratamento em que contém só zinco ou combinado, sugerindo que de alguma forma o zinco interferiu nos conteúdos das substâncias estudadas. Entretanto segundo Alloway (2004), o Zn atua como um

componente estrutural de uma gama de enzimas diferentes relacionadas com o metabolismo de carboidratos, na fotossíntese e na conversão de açúcares, no metabolismo de proteína, na formação de pólen, na manutenção da integridade de membranas.

Em relação ao conteúdo de aminoácidos, 50,51 mg g⁻¹ de matéria fresca, encontrada no tratamento B+Mo+Zn (Tabela 5), valor similar ao obtido por Cardoso (2006) (140 mg g⁻¹ de massa de matéria seca), considerando que a análise foi realizada em grãos frescos, cujo conteúdo médio de água é de 73% de sua massa. Verifica-se ainda, na Tabela 5, que o conteúdo de aminoácidos apresentou maior valor em todos os tratamentos quando comparados com a testemunha. Estes resultados sugerem que este aumento é devido ao tratamento.

Cardoso (2006) verificou em cultivo de ervilha sob aplicação de zinco (3kg ha⁻¹) o conteúdo de açúcar livre em torno de 40 mg g⁻¹ de matéria seca em grão verde de ervilha valor muito abaixo do apresentado no presente estudo (Tabela 5), que foi 65,16 mg g⁻¹ de matéria fresca (tratamento B+Mo). Já em relação a WSP e amido os resultados obtidos por Cardoso (2006) no mesmo trabalho, foram 101,56 e 163,27 mg g⁻¹ de matéria seca, respectivamente, estão bem acima dos observados na Tabela 5.

O conteúdo de proteína solúvel total encontrado em grãos de ervilha por Cardoso (2006) foi de 230 mg g⁻¹ de matéria seca, enquanto que neste estudo foi média de 6,0 mg g⁻¹ de matéria fresca.

Tabela 5. Conteúdos médios de aminoácidos, açúcar livre, WSP, amido e proteína (mg g^{-1}) em grãos verdes de ervilha cultivar Utrillo para tratamentos com B, Mo e Zn. Ilha Solteira –SP, 2006.

| Grão Verde | | | | | |
|---------------------|-----------|-----------|------------|--------------|-------------|
| Tratamentos | AA | AL | WSP | Amido | PROT |
| Testemunha | 40,37 | 59,92 | 5,90 | 12,32 | 6,59 |
| B | 46,10 | 61,67 | 1,26 | 11,15 | 5,65 |
| Mo | 43,60 | 58,23 | 2,86 | 13,52 | 5,88 |
| Zn | 43,66 | 62,14 | 1,12 | 12,28 | 5,44 |
| B+Mo | 44,19 | 65,16 | 1,31 | 12,33 | 6,27 |
| B+Zn | 44,17 | 49,26 | 1,29 | 11,85 | 6,15 |
| Mo+Zn | 48,14 | 48,00 | 1,28 | 11,72 | 5,60 |
| B+Mo+Zn | 50,51 | 50,34 | 1,25 | 11,13 | 6,47 |
| Média Geral | 45,09 | 56,84 | 2,03 | 12,04 | 6,00 |
| Valor de ‘F’ | 0,86 ns | 1,22ns | 1,00 ns | 0,30 ns | 0,55 ns |
| C. V. (%) | 14,85 | 21,19 | 163,07 | 23,33 | 19,06 |

Observação: 1. Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade ($p < 0,05$). 2. Onde AA=aminoácidos; AL=Açúcar livre; WSP=Polissacarídeos solúvel em água; PROT=Proteína; ns: não significativo C.V.: Coeficiente de Variação.

Na Tabela 6 estão os valores do conteúdo de aminoácidos, açúcar livre, WSP, amido e proteína nas sementes, os quais não diferiram estatisticamente nos diferentes tratamentos estudados. Os valores obtidos para o conteúdo de aminoácidos livres apresentam valores entre 20,97 a 26,10 mg g^{-1} , para açúcar livre foi de 87,05 mg g^{-1} a 114,76 mg g^{-1} , WSP de 33,71 mg g^{-1} a 48,05 mg g^{-1} , com relação a amido foi de 33,93 mg g^{-1} a 49,55 mg g^{-1} e para a proteína o conteúdo variou de 106,73 mg g^{-1} a 150,04 mg g^{-1} .

Cardoso (2006) verificou em sementes de ervilha conteúdo de 90,12 mg g^{-1} de aminoácidos contra 26,10 mg g^{-1} no tratamento Zn+Mo. O conteúdo de açúcar livre obtido 114,24 mg g^{-1} no tratamento B+Mo+Zn, concordam com os que Cardoso (2006) obteve (120,80 mg g^{-1}). O mesmo autor obteve o valor de 152 mg g^{-1} de WSP e 100 mg g^{-1} de amido nas sementes de ervilha, bem acima dos maiores valores obtidos (Tabela 6), 48,05 mg g^{-1} e

49,55 mg g⁻¹ para WSP e amido, respectivamente. O valor de proteína solúvel está condizente com o autor que obteve para as sementes de ervilha valor em torno 145 mg g⁻¹ e no presente trabalho o maior valor encontrado foi de 150 mg g⁻¹ no tratamento onde houve aplicação apenas de Zn, e quando comparado com a testemunha, verificou-se aumento de 13,4 %. Em feijão Gomes (2006) verificou aumento no conteúdo de proteína solúvel em sementes colhidas em plantas submetidas ao tratamento com 120 kg ha⁻¹ de N, este resultado mostra que a adubação nitrogenada influi no conteúdo de proteína, por outro lado, Olsen (1983) comenta que o Zn apresenta interação com N, podendo resultar em aumento no crescimento e no rendimento.

Tabela 6. Conteúdos médios de aminoácidos, açúcar livre, WSP, amido e proteína (mg g⁻¹) em sementes de ervilha cultivar Utrillo, submetidas ao tratamento com B, Mo e Zn. Ilha Solteira –SP, 2006.

| Sementes | | | | | |
|---------------------|--------|---------|---------|----------|---------|
| Tratamentos | AA | AL | WSP | Amido | PROT |
| Testemunha | 20,97 | 101,75 | 47,55 | 48,78 ab | 132,33 |
| B | 22,29 | 87,05 | 33,71 | 47,04 ab | 119,09 |
| Mo | 24,15 | 103,88 | 37,32 | 39,33 ab | 110,71 |
| Zn | 24,30 | 114,76 | 48,05 | 44,23 ab | 150,04 |
| B+Mo | 22,40 | 104,16 | 47,87 | 46,29 ab | 106,73 |
| B+Zn | 23,89 | 104,07 | 37,62 | 35,76 ab | 112,48 |
| Mo+Zn | 26,10 | 101,27 | 38,01 | 33,93 b | 116,12 |
| B+Mo+Zn | 24,33 | 114,24 | 38,05 | 49,55 a | 139,07 |
| Média Geral | 23,55 | 103,90 | 41,02 | 43,11 | 12,33 |
| Valor de “F” | 0,97ns | 1,04 ns | 1,02 ns | 1,80 ns | 0,39 ns |
| C. V. (%) | 13,70 | 16,24 | 27,96 | 20,77 | 39,96 |

Observação: 1. Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade ($p < 0,05$). 2. Onde: AA=aminoácidos; AL=Açúcar livre; WSP=Polissacarídeos solúvel em água; PROT=Proteína; **ns**: não significativo **C.V.:** Coeficiente de Variação.

De acordo com os dados da Tabela 7, verifica-se que os resultados obtidos não apresentaram diferenças estatísticas para nenhuma das variáveis estudadas. Para vigor primeira contagem os resultados variaram de 36,74% a 54,33%. Gomes (2006) obteve valores superiores (83,20%) para a primeira contagem de germinação em sementes de feijoeiro submetidas a doses de N.

Para vigor primeira contagem nas sementes que sofreram envelhecimento acelerado os resultados variaram de 20,66% a 31,33% (Tabela 7).

Segundo Popiningis (1973) citado por Sá (1994) plantas de soja provenientes de sementes de alto vigor apresentaram desempenho superior àquelas oriundas de sementes de baixo vigor, influenciando, inclusive, a produtividade.

Quanto aos valores de germinação padrão da semente, ocorreu variação de 57,16% a 70,49% nos tratamentos recebidos (Tabela 7).

Os resultados do teste de germinação para sementes envelhecidas artificialmente (Tabela 7), mostram que houve variação de 21,83% a 36,99%. Freitas & Nascimento (2006) mostraram que sementes de lentilha submetidas ao envelhecimento acelerado apresentaram 0% de germinação.

Em relação à condutividade elétrica padrão os valores foram de 60,55 uS/cm.g a 68,65 uS/cm.g e os valores de condutividade elétrica em sementes submetidas ao envelhecimento acelerado variou de 41,92 μ S/cm.g a 63,17 μ S/cm.g.

Dutra et al (2006) obteve valores de condutividade elétrica (CE) padrão com valores de 49,4 μ S/cm.g para lote de sementes de feijão caupi e verificou que este lote foi o que apresentou melhor desempenho no vigor, nos testes de germinação, de emergência de plântulas e no índice de velocidade de emergência, entre os quatro lotes estudados. Dias et al (1998) concluíram que o teste de CE foi eficiente para a avaliação do potencial fisiológico das sementes de feijão-de-vagem e quiabo. Sá (1999) estudando condutividade elétrica em sementes de tomate observou que os resultados de correlação simples entre condutividade elétrica e os dados de germinação, primeira contagem, índice velocidade de germinação e emergência em substrato artificial, evidenciam correlação negativa entre condutividade e o teste de germinação e os de vigor utilizados. Este fato indica que aumentos nos valores de condutividade elétrica corresponderam à queda nos níveis de germinação e de vigor das sementes.

Os resultados obtidos e apresentados na Tabela 7 não permitem relacionar as várias análises para verificação de qualidade de sementes, dificultando a conclusão de qual tratamento teria proporcionado melhor vigor às sementes de ervilha.

Para a variável, emergência a campo os valores variaram de 24,66% a 37,66%.

Freitas & Nascimento (2006) testando sementes de lentilhas obtiveram para germinação padrão 94%, para teste de vigor 79% e 90% para emergência de plântulas em campo.

Dessa forma, verifica-se a importância da utilização de mais de um teste para determinar o vigor das sementes, em função da variação da eficiência dos procedimentos disponíveis, conforme destacou Marcos Filho (1999b).

A qualidade fisiológica das sementes é avaliada rotineiramente em laboratório, pelo teste padrão de germinação. No entanto, há vários anos, pesquisadores, tecnólogos, produtores de sementes e agricultores não estão satisfeitos com as informações obtidas apenas com este teste, realizado em condições que, geralmente, conduzem à superestimativa do potencial fisiológico das sementes para dar origem a plântulas normais (MARCOS FILHO et al, 1987, CALIARI ; MARCOS FILHO, 1990). A experiência daqueles que se dedicam à tecnologia de sementes indica, com grande frequência, que a qualidade fisiológica das sementes é influenciada pelo meio ambiente. Portanto, se as condições do ambiente após a semeadura não forem as ideais, a percentagem de emergência das plântulas pode ser inferior à de germinação determinada em laboratório (MARCOS FILHO et al, 1987), conforme se verificaram com as sementes em estudo.

De acordo com os resultados da análise de massa da matéria seca de 100 sementes de ervilha Utrillo, foram de 30,22 g a 31,19 g, não apresentando diferença estatística e que os tratamentos não influenciam neste fator (Tabela 7).

Tabela 7. Valores médios de vigor (%), germinação (%), condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm g}^{-1}$), emergência a campo (%) e massa de 100 sementes (g) de ervilha, cultivar Utrillo submetidas ou não ao envelhecimento acelerado obtidas de cultivo sob tratamentos com B, Mo e Zn. Ilha Solteira SP, 2006.

| Tratamentos | V | VSEA | GP | GPSEA | CEP | CESEA | EC(%) | M100 (g) |
|--------------------|---------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|
| Testemunha | 47,66 | 20,66 | 63,66 | 21,83 | 60,55 | 56,28 | 25,33 | 30,87 |
| B | 36,74 | 21,99 | 57,16 | 24,66 | 62,98 | 41,92 | 36,33 | 31,05 |
| Mo | 40,99 | 26,33 | 59,16 | 29,83 | 68,65 | 53,25 | 31,99 | 30,56 |
| Zn | 43,99 | 23,83 | 62,50 | 26,83 | 65,85 | 53,10 | 35,33 | 30,22 |
| B+Mo | 47,16 | 29,33 | 62,83 | 35,33 | 63,89 | 63,17 | 28,33 | 30,42 |
| B+Zn | 44,33 | 30,83 | 63,83 | 36,99 | 65,41 | 51,85 | 37,66 | 30,83 |
| Mo+Zn | 54,33 | 24,49 | 70,49 | 31,33 | 67,15 | 55,56 | 24,66 | 30,91 |
| Mo+B+Zn | 45,00 | 31,33 | 62,50 | 36,49 | 66,56 | 49,73 | 32,33 | 31,19 |
| Média Geral | 45,03 | 26,10 | 62,77 | 30,41 | 65,13 | 53,11 | 31,50 | 30,76 |
| Valor de F | 1,13 ns | 1,30ns | 0,79 ns | 1,73 ns | 1,12 ns | 1,79 ns | 0,92 ns | 0,25ns |
| C. V. (%) | 21,45 | 27,23 | 13,923 | 28,34 | 7,45 | 16,99 | 32,90 | 4,30 |

Observação: 1. Letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade ($p < 0,05$). 2. Onde V= Vigor-primeira contagem; VSEA= Vigor-primeira contagem em sementes com envelhecimento acelerado; GP= Germinação padrão; GPSEA= Germinação em sementes com envelhecimento acelerado; CEP= Condutividade elétrica padrão; CESEA= Condutividade elétrica em sementes com envelhecimento acelerado; EC=Emergência de plântulas em campo; M100= Massa de 100 sementes; **ns**: não significativo **C.V.:** Coeficiente de Variação.

De acordo com os resultados da Tabela 8, obtidos com a avaliação do exsudato da condutividade elétrica, semente em condição padrão ocorreu variação de $7,19 \text{ mg g}^{-1}$ a $12,77 \text{ mg g}^{-1}$ para os teores de aminoácidos, para açúcar livre os valores foram de $18,32 \text{ mg g}^{-1}$ a 38 mg g^{-1} e para proteína os valores encontrados foram de $0,07 \text{ mg g}^{-1}$ a $0,47 \text{ mg g}^{-1}$.

Os dados da análise do lixiviado de sementes submetidas ao envelhecimento acelerado mostraram que a concentração de aminoácidos sofreu variação de 7,52 a 15,32 mg g⁻¹, açúcar livre de 13,29 a 23,57 mg g⁻¹ e proteína de 0,60 a 1,94 mg g⁻¹ (Tabela 8).

Comparando-se os resultados da análise da condutividade elétrica (Tabela 7) verifica-se que estes, são maiores na semente em condição padrão e na análise do exsudato (Tabela 8) resultaram em maiores concentrações de aminoácidos e açúcar livre, enquanto que o conteúdo de proteína foi maior no exsudato das sementes envelhecidas, sugerindo que nestas últimas a membrana sofre dano maior, observada pela perda de maior concentração de proteína.

Tabela 8. Teores médios de aminoácidos, açúcar livre e proteína (mg g⁻¹) em exsudato da solução da condutividade elétrica de sementes de ervilha cultivar Utrillo para tratamentos com B, Zn e Mo. Ilha Solteira – SP, 2006.

| Tratamentos | Padrão | | | Envelhecimento acelerado | | |
|--------------------|---------|---------|---------|--------------------------|---------|--------|
| | AA | AL | PROT | AA | AL | PROT |
| Testemunha | 7,32 | 18,32 | 0,10 | 8,76 | 15,79 | 1,88 |
| B | 7,19 | 29,32 | 0,07 | 7,56 | 13,29 | 0,60 |
| Mo | 10,26 | 34,15 | 0,15 | 8,29 | 18,50 | 1,14 |
| Zn | 11,21 | 28,35 | 0,14 | 15,32 | 23,57 | 1,94 |
| B+Mo | 8,90 | 21,17 | 0,11 | 8,92 | 21,40 | 1,06 |
| B+Zn | 8,18 | 26,83 | 0,47 | 8,45 | 21,36 | 1,04 |
| Mo+Zn | 12,77 | 38,00 | 0,17 | 8,61 | 23,46 | 0,82 |
| B+Mo+Zn | 10,53 | 37,50 | 0,32 | 7,52 | 21,63 | 0,91 |
| Média Geral | 9,55 | 29,20 | 0,83 | 9,18 | 19,88 | 1,17 |
| Valor de F | 1,06 ns | 1,09 ns | 1,19 ns | 1,80 ns | 1,04 ns | 1,46ns |
| C. V. (%) | 40,30 | 46,97 | 17,36 | 41,16 | 36,53 | 68,47 |

Observação: 1. Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade (p<0,05). 2. Onde AA=aminoácidos; AL=Açúcar livre; PROT=Proteína; ns: não significativo C.V.: Coeficiente de Variação.

5- CONCLUSÃO

Nas condições em que o experimento foi realizado, as análises permitem concluir que:

- As aplicações foliares de boro, molibdênio e zinco não afetam a produtividade,.
- A aplicação foliar de Zn aumenta o conteúdo de proteína nos grãos.
- A aplicação foliar de B+Mo promove aumento no conteúdo de magnésio nos grãos.
- A aplicação foliar B+Mo+Zn aumenta o conteúdo de cobre nos grãos.

6. REFERÊNCIAS

ABDUL-BAKI, A.A. Biochemical aspects of seed vigor. **HortScience**, Alexandria, v.5,n.6, p.765-771, 1980.

ABDUL-BAKI, A.A.; ANDERSON, J.D. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. **Crop Science**, Madison, v.13, n.6, p.630-633, 1972a.

ABDUL-BAKI, A.A.; ANDERSON, J.D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In: KOZLOWSKI, T.T. (Ed.). **Seed biology**. New York: Academic Press, 1972b. v.2, p.238-315.

ALLOWAY, B. J. Zinc in soils and crop nutrition. Belgium: International Zinc Association. Disponível em: <<http://www.zinc-crops.org/Crops/Alloway-pdf/alloway-all.pdf>>. Acesso em: 10 ago. 2004.

AMARAL, A. S.; PESKE, S.T. Testes para avaliação rápida da qualidade fisiológica de sementes de trigo. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.6, n.1, p.12 – 15, 2000.

AMBROSANO,E.J.; WUTKE, E.B.; AMBROSANO, G.M.B.; BULISANI, E.A.; BORTOLETTO, N.; MARTINS, A.L.M.; PEREIRA, J.C.V.N.A.; SORDI, G. Resposta da aplicação de micronutrientes no cultivo de feijão irrigado no inverno. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 53, n. 2/3, p. 273-279, 1996.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. Lincoln: AOSA, 2002. 105p. (Contribution, 32).

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. East lansing: AOSA, 1983. 88p. (Contribution, 32).

BIELSKI, R.L.; TURNER, N.A. Separation and estimation of aminoacid in crude plant extracts by thin layer eletrophoreses and chromatography. **Analytical Biochemistry**, New York, v.17, p. 278-282, 1966.

BLADON, F.L.B.; BIDDLE, A.J. A three-years study of laboratory germination, electrical conductivity and field emergence in combining peas. **Seed Abstracts**, Farham, v.15, n.8, p.17, 1992.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method of microgram quantitie of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v.72, p.248-254, 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretária da Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Defesa Vegetal. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Editora, 1992, 365p.

CALIARI, M.F.; MARCOS FILHO, J. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de ervilha (*Pisum sativum* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.12, n.3, p.52-75, 1990.

CARDOSO, E. D. **Efeito do Zn e N no conteúdo de aminoácidos, proteínas e carboidratos dos grãos de ervilha (*Pisum sativum* L.)**. cultivar Utrillo. 2006. 42 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2006.

CARDOSO, E. D. **Doses e épocas de aplicação de zinco no crescimento e produção de duas variedades de ervilha grão verde**. 2003. 36 f. Trabalho de Graduação (Agronomia) - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2003.

CENTURION, J. F. Balanço hídrico da região de Ilha Solteira. In: OLIVEIRA, J. A. et al. (Ed.). **Relatório Técnico Científico nº 1**. Ilha Solteira: UNESP/FEIS, 1981. p. 1-5.

CÍCERO, S.M.; VIEIRA, R.D. Teste de frio. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 1994. p.151-164.

DECHEN, A.R.; HAAG, H.P.; CARMELLO, Q.A.C. Função dos micronutrientes nas plantas. In: SIMPÓSIO SOBRE MICRONUTRIENTES, 1., 1988, Jaboticabal. **Anais...** Piracicaba: POTAFOS/CNPq, 1991. p.65-78.

DEL GROSSI, L. **Efeito de Potássio e nitrogênio na produção e no conteúdo de clorofila, polissacarídeo solúvel em água, amido e proteínas dos grãos de ervilha (*Pisum sativum* L.) cultivar Utrillo.** 2007. 42 f. Trabalho de Graduação (Agronomia) - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2007.

DIAS, D. C. F. S.; VIEIRA, A. N.; BHÉRING, M. C. Condutividade elétrica e lixiviação de potássio para avaliação do vigor de sementes de hortaliças: feijão-de-vagem e quiabo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.2, p.408-413, 1998.

DIAS, D. C. F. S.; MARCOS FILHO, J. Teste de vigor baseados na permeabilidade das membranas celulares: I. Condutividade elétrica. **Informativo Abrates**, Curitiba, v.5, n.1, p.26-36, 1995.

DUBOIS, M. et. al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v.28, p.350-56, 1956.

DUTRA, A. S.; MEDEIROS FILHO, S.; TEÓFILO, E. M. Condutividade elétrica em sementes de feijão caupi. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.37, n.2, p.166-170, 2006.

FERREIRA, A. C. B.; ARAÚJO, G. A. A.; PEREIRA, P. R. G.; CARDOSO, A. A. Características agronômicas e nutricionais do milho adubado com nitrogênio, molibdênio e zinco. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.58, n.1, p. 131-138, 2001.

FREITAS, R. A.; NASCIMENTO, W. M. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de lentilha. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.28, n.3, p.59-63, 2006.

FURLANI, A. M. C. Nutrição mineral. In: KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p.61-68.

GOMES, F. G. Jr. **Nitrogênio no feijoeiro em sistema de plantio direto sobre diferentes palhadas: produtividade, composição química e qualidade fisiológica das sementes.** 2006. 106 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2006.

GRASSI FILHO, H. **Boro nas plantas.** Disponível em: <<http://www.fca.unesp.br/intranet/arquivos/helio/MICRO%20B,%20C1%20E%20Mo%202006.pdf>>. Acesso em: 23 mar. 2007.

HAMPTON, J.G.; TEKRONY, D.M. **Handbook of vigor test methods.** Zürich: ISTA, 1995. 117p.

ISLAM, A.J.A.; DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Comparison of methods for evaluation deterioration in rice seed. **Proceedings of the Association of Official Seed Analysts**, Lincoln, v.63, p.155-160, 1973.

JOHNSON, R.R.; WAX, L.M. Relationship of soybean germination and vigor tests to field performance. **Agronomy Journal**, Madison, v.70, n.2, p.273-278, 1978.

KORNDÖRFER, G.H.; ALCÂNTARA, C.B.; HOROWITZ, N.; LANA, R.M.Q. Formas de adição de zinco a um formulado NPK e seu efeito sobre a produção de milho. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.52, n.3, p. 555-560, 1995.

LIMA, S. F.; ANDRADE, M. J. B.; CARVALHO, J. G. Resposta do feijoeiro à adubação foliar de boro, molibdênio e zinco. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.23, n.2, p.462-467, 1999.

LINGLE, J. C., TIFFIN, L. O., BROWN, J. C. Iron uptake – transport of soybeans as influenced by other cations. **Plant Physiology**, Minneapolis, v.38, p.71 – 76, 1963.

LOEFFLER, T.M.; TEKRONY, D.M.; EGLI, B.D. The bulk conductivity test as an indicator of soybean seed quality. **Journal of Seed Technology**, Springfield, v.12, n.1, p.37-53, 1988.

LOPES, A.S. Micronutrientes nos solos e culturas brasileiras. In: SEMINÁRIO SOBRE FÓSFORO, CÁLCIO, MAGNÉSIO, ENXOFRE E MICRONUTRIENTES, 1984, São Paulo. **Anais...** São Paulo: MANAH, 1984. p.110-141.

MACKAY, D. C.; CHIPMAN, E. W.; GUPTA, U. C. Cooper and molybdenum nutrition of crops grown on acid sphagnum peat soil. **Soil Science Society American Proceedings**, Madison, v.30, p. 755 – 759, 1966.

- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.
- MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. 251p.
- MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999a. Cap.3, p.1-24.
- MARCOS FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999b. Cap.1, p.1-21.
- MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. **Teste em vigor de sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.133-149.
- MARCOS FILHO, J.; SILVA, W.R.; NOVENBRE, A.D.C.; CHAMMA, H.M.C.P. Estudo comparativo de métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja, com ênfase ao teste de condutividade elétrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.25, n.12, p.1805-1815, 1990.
- MARCOS FILHO, J.; CICERO, S.M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade de sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 320 p.
- MATTHEWS, S.; BRADNOCK, W.T. The detection of seed samples of wrinkle-seeded peas (*Pisum sativum* L.) of potentially low planting value. **Proceedings of the International Seed Testing Association**, Vollebakk, n.32, p.553-563, 1967.
- McDONALD, M.B. Standardization of seed vigour tests. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION, 24, 1995, Copenhagen. **Proceedings...** Zürich, CH-Switzerland: ISTA, 1995. p.88-97.

McDONALD, M.B.; WILSON, D.O. An assessment of the standardization and ability of the ASA – 610 to rapidly predict potential soybean germination. **Journal of Seed Technology**, Lincoln, v.4, n.1, p.1-11, 1979.

MELLO, E.F.R.Q. **Resposta de variedades de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) a níveis de zinco nas formas inorgânica e orgânica em casa de vegetação e no campo**. 1990. 125 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1990.

MELLO, S.C.; SPINOLA, M.C.M.; MINAMI, K. Métodos de avaliação da qualidade fisiológica de sementes de brócolos. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.56, n.4, supl. p.1151-1155, 1999.

MENEZES, J.E.; NASCIMENTO, W.M. Teste de envelhecimento precoce em sementes de ervilha (*Pisium sativum* L.). **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.6, n.1, p.63, 1988.

MURPHY, J.B.; NOLAND, T.L. Temperature effects on seed imbibition and leakage mediated by viscosity and membranes. **Plant Physiology**, Stanford, v.69, n.2, p.428-431, 1982.

NASCIMENTO, W.M. A importância da qualidade de sementes olerícolas. **A lavoura**, Rio de Janeiro, v.97, n.608, p.38-39, 1994.

OLIVEIRA, I.P.; ARAÚJO, R.S.; DUTRA, L.G. Nutrição mineral e fixação biológica de nitrogênio. In: ARAÚJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M.J. **O. Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1996. p.169-221.

PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de tomate. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.58, n.3, p.525-531, 2001.

PERES, J. R. R.; SUHET, A. R.; VARGAS, M. A. T. Fixação de nitrogênio atmosférico pela ervilha em solos de cerrados. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 14, n. 158, p. 19, 1989.

PIANA, Z.; TILLMANN, M.A.A.; MINAMI, K. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de cebola e sua relação com a produção de mudas vigorosas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.17, n.2, p.149-153, 1995.

POWELL, A.A. Cell membranes and seed leakage conductivity in relation to the quality of seed for sowing. **Journal Seed Technology**, Spring Field, v.10, n.2, p.81-100, 1986.

REIS, N. V. B. dos. Clima e a cultura da ervilha. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 14, n. 158, p. 8-9, 1989.

RODO, A.B.; TILLMANN, M.A.A.; VILLELA, F.A. Testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.21, n.1, p.23-28, 1998.

ROSOLEM, C.A. Adubação foliar. In: SIMPOSIO SOBRE FERTILIZANTES NA AGRICULTURA BRASILEIRA, 1, 1984, Brasília. **Anais...** Brasília: EMBRAPA, 1984. p. 419-449.

RURALNET. Disponível em: <www.ruralnet.com.br/hortaliças/ervilha.asp>. Acesso em: 27 nov. 2005.

SÁ, M. E. Condutividade elétrica em sementes de tomate (*Lycopersicon lycopersicum* L.). **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 56, n. 1, p. 13-19, 1999.

SÁ, M. E. Importância da adubação na qualidade de sementes. In: SÁ, M. E. ; BUETTI, S. (Coord.). **Importância da adubação na qualidade dos produtos agrícolas**. São Paulo: Ícone, 1994. p.65.

SILVEIRA, P. M.; DYNIA, J. F.; ZIMMERMANN, F.J.P. Resposta do feijoeiro irrigado a boro, zinco e molibdênio. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.20, n.2, p.198-204, 1996.

SPINOLA, M.C.M.; CALIARI, M.F.; MARTINS, L.; TESSARIOLI NETO, J. Comparação entre métodos para avaliação do vigor de sementes de cenoura. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.2, p.301-305, 1998.

TAIZ, L. ; ZEIGER, E. Nutrição mineral. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.95-112.

TOMM, G. O.; LIMA, G. J. M. M. **Desenvolvimento da cultura de ervilha para alimentação animal no Sul do Brasil**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2003. Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/culturas/ervilha/graos_secos.htm Acesso em: 27 nov. 2005.

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap.4, p.1-26.

VIEIRA, R. D.; PAIVA-AGUERO, J. A.; PERECIN, D.; BITTENCOURT, S. R. M. Correlation of electrical conductivity and other vigor tests with field emergence of soybean seedlings. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.27, n.1, p. 67-75, 1999a.

VIEIRA, R. D.; PAIVA-AGUERO, J. A.; PERECIN, D. Electrical conductivity and field performance of soybean seeds. **Seed Technology**, Lincoln, v.21, n.1, p.15-24, 1999b.

VIEIRA, R.F. **Aplicação foliar de molibdênio e seu efeito nas atividades da nitrogenase e redutase do nitrato no feijoeiro em campo**. 1994. 188 f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.

VIEIRA, R.D. Teste de condutividade elétrica. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (Ed.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994b. p.103-132.

VINCENT, J. M. Factors controlling the legumes-rhizobium symbiosis. In: NEWTON, W. E.; ORME-JOHNSON, E. H. (Ed.). **Nitrogen fixation**. Baltimore: University Park Press, 1980. v. 3, p. 103-129.

WOODSTOCK, L.W. Seed imbibition: a critical period for successful germination. **Journal of Seed Technology**, Lincoln, v.12, n.1, p.1-15, 1988.

WOODSTOCK, L.M. Physiological and biochemical of seed vigor. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.1, n.1, p.127-157, 1973.

YAKLICH, R.W.; KULIK, M.M. Evaluation of vigor tests in soybean seeds: relationship of standard germination test, vigor classification, seedling length and tetrazolium staining, to field performance. **Crop Science**, Madison, v.19, n.1, p.247-252, 1979.

YEMM, E. M.; COCKING, E. C. Estimation of amino acids by ninhidrin. **Analyst**, London, v. 80, p. 209-213, 1955.